



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ
ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ

Θέμα πτυχιακής εργασίας

«Επίδραση της ζιζανιοχλωρίδας στην ανάπτυξη, απόδοση και περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη του φαρμακευτικού φυτού *Silybum marianum* (L.) σε διαφορετικές πυκνότητες σποράς » - «Effect of weed flora on growth, yield and silymarin content of medicinal plant *Silybum marianum* (L.) under different plant densities».

Κοτσαλίδου Νίκη



Επιβλέπων Καθηγητής: Τσιρόπουλος Νικόλαος

ΒΟΛΟΣ, 2019

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«Επίδραση της ζιζανιοχλωρίδας στην ανάπτυξη, απόδοση και περιεκτικότητα σε σίλυμαρίνη του φαρμακευτικού φυτού *Silybum marianum* (L.) σε διαφορετικές πυκνότητες σποράς » - «Effect of weed flora on growth, yield and silymarin content of medicinal plant *Silybum marianum* (L.) under different plant densities».

Κοτσαλίδου Νίκη

Επιβλέπων καθηγητής: Τσιρόπουλος Νικόλαος

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

1. Τσιρόπουλος Νικόλαος, Επιβλέπων Καθηγητής, Μέλος ΔΕΠ
2. Δαναλάτος Νικόλαος, Καθηγητής, Μέλος ΔΕΠ
3. Καρκάνης Ανέστης, Επίκουρος Καθηγητής

ΒΟΛΟΣ, 2019

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή της πτυχιακής διατριβής μου κ. Τσιρόπουλο Νικόλαο (Καθηγητής και Διευθυντής στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας), για την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και την πολύτιμη καθοδήγηση και παρακολούθηση της πορείας συγγραφής. Την βαθύτατη ευγνωμοσύνη μου εκφράζω στον κ. Καρκάνη Ανέστη (Επίκουρος Καθηγητής και Διευθυντής στο εργαστήριο Ζιζανιολογίας), για τον χρόνο που διέθεσε για την εκπόνηση της παρούσας εργασίας και τις σημαντικές υποδείξεις και συμβουλές του καθ' όλη την διάρκεια των τελευταίων δυο ετών. Ιδιαίτερες ευχαριστίες απευθύνω στον υποψήφιο Διδάκτορα κ. Αραμπατζή Δημήτριο, για την ανεκτίμητη βοήθεια του στον πειραματικό αγρό, αλλά και για τις γνώσεις και την καθοδήγηση που προσέφερε κατά την πραγματοποίηση της εργαστηριακής ανάλυσης.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη	6
Κεφάλαιο 1° : Εισαγωγή	7
1.1 Γαϊδουράγκαθο (<i>Silybum marianum</i> (L.) Gaertn.)-Γενικά	7
1.2 Διεθνής αναγνώριση	8
1.3 Το γαϊδουράγκαθο ως ζιζάνιο	9
1.4 Μορφολογία φυτού	9
1.5 Βιολογικός κύκλος	10
1.6 Περιγραφή σπόρου	11
1.6.1 Το έλαιο του σπόρου	12
1.6.2 Η σιλυμαρίνη και τα συστατικά της	13
1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την απόδοση του γαϊδουράγκαθου	16
1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη και τα συστατικά της	17
1.9 Επίδραση της ζιζανιοχλωρίδας στην απόδοση των καλλιεργειών	19
1.10 Επίδραση της πυκνότητας στη ζιζανιοχλωρίδα	21
1.11 Φαρμακευτικές χρήσεις της σιλυμαρίνης	22
1.12 Παρενέργειες της σιλυμαρίνης	23
1.13 Άλλες χρήσεις του γαϊδουράγκαθου	23
	25
Κεφάλαιο 2° : Υλικά και Μέθοδοι	
2.1 Εγκατάσταση πειράματος	25
2.1.1 Τοποθεσία και έδαφος	25
2.1.2 Προετοιμασία εδάφους και πειραματικό σχέδιο εγκατάστασης	25
2.1.3 Σπορά	27
2.1.4 Μετεωρολογικά δεδομένα	27
2.1.5 Καταπολέμηση ζιζανίων	29
2.1.6 Καταγραφές ανάπτυξης	29
2.1.6.1 Διάμετρος ροζέτας	30
2.1.6.2 Σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης	30
2.1.6.3 Ύψος φυτών	30
2.1.6.4 Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος	30
2.1.6.5 Αριθμός ζιζανίων	31
2.1.6.6 Νωπό και ξηρό βάρος ζιζανίων	31
2.1.7 Συγκομιδή	31
2.1.7.1 Αριθμός κεφαλών-Ταξιανθίες	32
2.1.7.2 Βάρος 1000 σπόρων	32
2.1.7.3 Απόδοση σε σπόρο	32
2.2 Εργαστηριακή ανάλυση προσδιορισμού ελαίου και σιλυμαρίνης	33
2.2.1 Εκχύλιση Soxhlet	33
2.2.1.1 Εκχύλιση Soxhlet με χρήση εξανίου για συλλογή λιπαρών συστατικών	33
2.2.1.2 Εκχύλιση Soxhlet με χρήση μεθανόλης για συλλογή σιλυμαρίνης	34
2.2.2 Εξάτμιση μεθανόλης και εξανίου	34

2.2.3 Καταγραφές σιλυμαρίνης και ελαίου (λιπιδίων)	35
2.2.3.1 Απόδοση σε σιλυμαρίνη	35
2.2.3.2 Απόδοση σε έλαιο	35
2.2.3.3 Επί τοις εκατό περιεκτικότητα σιλυμαρίνης	35
2.2.3.4 Επί τοις εκατό περιεκτικότητα ελαίου	35
2.2.4 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)	36
2.2.4.1 Παρασκευή διαλυμάτων	36
2.2.4.2 Χρωματογραφική ανάλυση	36
	39
Κεφάλαιο 3^ο : Αποτελέσματα	
3.1 Διάμετρος ροζέτας	39
3.2 Ύψος φυτού	40
3.3 Σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης	43
3.4 Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος	46
3.5 Ταξιανθίες-Αριθμός κεφαλών	49
3.6 Βάρος 1000 σπόρων	50
3.7 Απόδοση σε σπόρο	50
3.8 Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης	52
3.9 Περιεκτικότητα ελαίου	52
3.10 Απόδοση σε σιλυμαρίνη	52
3.11 Απόδοση σε έλαιο	54
3.12 Αριθμός ζιζανίων	54
3.13 Νωπό βάρος ζιζανίων	55
3.14 Ξηρό βάρος ζιζανίων	56
	58
Κεφάλαιο 4^ο : Συζήτηση - Συμπεράσματα	
4.1 Επίδραση της πυκνότητας στην απόδοση της καλλιέργειας γαϊδουράγκαθου	58
4.2 Επίδραση της ζιζανιοχλωρίδας στην απόδοση της καλλιέργειας γαϊδουράγκαθου	61
4.3 Συμπεράσματα	62
Βιβλιογραφία	63
Παράρτημα	69

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

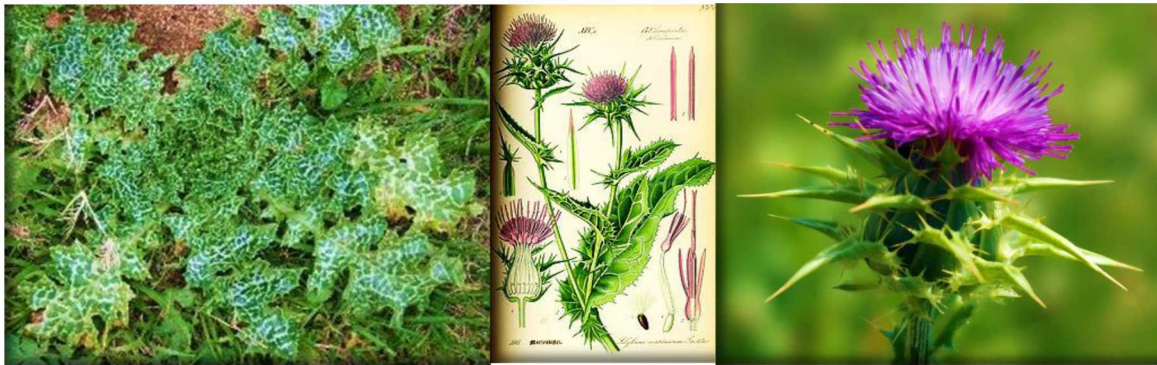
Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας αποτελεί η αξιολόγηση της επίδρασης των παραγόντων της πυκνότητας σποράς και της ζιζανιοχλωρίδας στην έκβαση της καλλιέργειας του γαϊδουράγκαθου καθώς και στην περιεκτικότητα και απόδοση της σε σιλυμαρίνη. Το πειραματικό μέρος πραγματοποιήθηκε τη χρονική περίοδο Οκτωβρίου 2017 - Μαΐου 2018, στο Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Βελεστίνο Μαγνησίας). Για το πείραμα ακολουθήθηκε το σχέδιο των υποδιαιρεμένων τεμαχίων με 2 παράγοντες (με 2 επεμβάσεις ο καθένας) και 4 επαναλήψεις. Οι παράγοντες και επεμβάσεις ήταν οι εξής: I) ο παράγοντας της πυκνότητα σποράς, με 2 επεμβάσεις (Πυκνότητα 1 - Π1: 28 φυτά/m² και Πυκνότητα 2 - Π2: 40 φυτά/m²) και II) ο παράγοντας των ζιζανίων με 2 επεμβάσεις (1. Μάρτυρας χωρίς ζιζάνια και 2. Ζιζάνια).

Τα ευρήματα της μελέτης κατέγραψαν θετική συσχέτιση μεταξύ χαμηλής πυκνότητας σποράς (Π1) και απόδοσης σε σιλυμαρίνη, με αύξηση της απόδοσης της ως και 34,4% στα τεμάχια μάρτυρες (χωρίς ζιζάνια) και 26,7% στα τεμάχια με ζιζάνια. Αναφορικά, η υψηλότερη απόδοση σε σιλυμαρίνη που καταγράφηκε ήταν 5,06 kg/στρέμμα. Η ποσοστιαία περιεκτικότητα του σπόρου τόσο σε σιλυμαρίνη όσο και σε έλαιο δεν επηρεάστηκε από τους δυο παράγοντες. Ο αριθμός των κεφαλών (ταξιανθίες) ανά φυτό, όπως και η ολική απόδοση σε σπόρο, επηρεάστηκαν θετικά από τη χαμηλή πυκνότητα σποράς (Π1) και την απουσία ζιζανίων. Συγκεκριμένα, στην αραιή σπορά σημειώθηκε αύξηση της απόδοσης σε σπόρο κατά 18,7% σε τεμάχια μάρτυρες (χωρίς ζιζάνια) και 12,7% σε τεμάχια με ζιζάνια, σε σχέση με την πυκνή σπορά (Π2). Η υψηλότερη περιεκτικότητα σιλυμαρίνης που καταγράφηκε ήταν 2,65%, ενώ η υψηλότερη απόδοση σε σπόρο ήταν 190,07 kg/στρέμμα. Τέλος, ο παράγοντας των ζιζανίων επηρέασε σημαντικά την ξηρή βιομάζα των γαϊδουράγκαθων (μέγιστη καταγραφή ξηρού βάρους 2118,7 kg/στρέμμα), με τον ανταγωνισμό από τα ζιζάνια να προκαλεί μείωση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος κατά 17% στα τεμάχια με πυκνότητα 1 (28 φυτά m⁻²) και 12,8% στα τεμάχια με πυκνότητα 2 (40 φυτά m⁻²).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γαϊδουράγκαθο (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.)- Γενικά

Το γαϊδουράγκαθο (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) αποτελεί ετήσιο ή διετές φυτό που ενδημεί σε χώρες της Μεσογείου και της Βορείου Αφρικής (Chambers et al. 2017). Ανήκει στην οικογένεια Asteraceae της τάξης των Asterales, είναι διπλοειδές ($2n=34$), αυτογονιμοποιούμενο είδος, συνώνυμο του *Carduus marianus* L. (Martinelli et al. 2016, Karkanis et al. 2011). Το λατινικό όνομα του γένους *Silybum* προέρχεται από την ελληνική λέξη «σίλυβος» ή αλλιώς θύσανος, ενώ αναφέρεται από αρχαιοτάτων χρόνων ως «πτέρνιζ» από τον Θεόφραστο (4^{ος} αιώνας π.Χ.) και «σίλυβος» από τον Διοσκουρίδη (1^{ος} αιώνας π.Χ.) (Εικόνα 1) (Křen and Walterová 2005, Corchete 2008, Biedermann et al. 2013). Η αγγλική κοινή ονομασία του είναι «milk thistle» ή «blessed milk thistle» ή «Christ's crown» ή «Holy thistle» ή «Mary thistle» ή «Marian thistle» ή «blessed Virgin thistle» (Abenavoli et al. 2010). Υπήρξε φυσικό παραδοσιακό θεραπευτικό για τους ιθαγενείς Αμερικανούς ενάντια σε παθήσεις όπως οι κίρσοι και εμμηνορροϊκά προβλήματα (Abenavoli et al. 2018). Κατά την αναγεννησιακή εποχή πολλοί φυσιολόγοι περιλάμβαναν το γαϊδουράγκαθο στα συγγράμματα τους με χαρακτηριστική την αναφορά σε εκχύλιση του σπόρου του φυτού για την θεραπεία των διαταραχών στο συκώτι από τον βοτανολόγο Hieronymus Bock (Biedermann et al. 2013). Συνιστάται από διάσημους βοτανολόγους όπως ο John Gerard και Nicholas Culpeper, ως θεραπεία για την μελαγχολία και τον πυρετό (Abenavoli et al. 2018). Το 2014, το γαϊδουράγκαθο κατέκτησε την έκτη θέση ανάμεσα στα είκοσι κορυφαία φυτικά συμπληρώματα διατροφής στην αγορά βιολογικών σκευασμάτων υγείας, καθώς επίσης και την δωδέκατη θέση ανάμεσα στα σαράντα με κορυφαίες πωλήσεις φυτικά συμπληρώματα διατροφής στην αγορά των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (Smith et al. 2015). Έχουν αναγνωρισθεί δυο γενότυποι του *Silybum marianum*: ο γενότυπος με ιώδη και ο γενότυπος με λευκή ταξιανθία. Οι φαρμακευτικές ιδιότητες του πρώτου και ευρέως μελετημένου γενότυπου, καθορίζονται από την περιεκτικότητα του συμπλέγματος φλαβονολιγνάνων και του φλαβονοειδούς της ταξιφολίνης οι οποίες συνιστούν την σιλυμαρίνη. Η σιλυμαρίνη συσσωρεύεται κατά κύριο λόγο στο σπόρο (ποσότητας 1-4% συνήθως, αλλά έχει καταγραφεί και ποσότητα 8% του ξηρού βάρους του σπόρου), καθώς επίσης και σε ελάχιστες ποσότητες στις ρίζες και στα άνθη (Martin et al. 2006, Karkanis et al. 2011, Martinelli et al., 2016). Εκτός της σιλυμαρίνης, εκτεταμένη και πολλά υποσχόμενη είναι και η χρήση του ελαίου, το οποίο περιέχεται σε ποσοστό 18-31% στον σπόρο (Ghavami and Ramin 2008, Fathi-Achachlouei and Azadmard-Damirchi 2009).



Εικόνα 1. Το γαϊδουράγκαθο *Silybum marianum* L. στο στάδιο της ροζέτας (αριστερά) και η ταξιανθία (κεφάλιο) του άνθους (δεξιά).

1.2 Διεθνής αναγνώριση

Χάρη στην αναγνώριση της σημασίας του ως φαρμακευτικό φυτό, στις πολυάριθμες έρευνες πάνω στις ευεργετικές του ιδιότητες και την κατάταξη του στα κορυφαία φυτικά συμπληρώματα διατροφής παγκοσμίως, το γαϊδουράγκαθο καλλιεργείται πλέον ως ετήσιο σε αρκετές χώρες ανά τον κόσμο με κυρίαρχες την Πολωνία, Ουγγαρία, Ιταλία, Αίγυπτο, Ισραήλ, Κίνα, Ιράν, Ινδία, Αργεντινή, Αυστραλία, ενώ κερδίζει έδαφος σε χώρες όπως ο Καναδάς και η βόρεια Αμερική (Εικόνα 3) (Martin et al. 2006, Zheljaskov et al. 2006, Vaknin et al. 2008, Takase et al. 2014). Στόχος των παραπάνω χωρών είναι η επιτυχής ενσωμάτωση του *S. marianum* στο περιβάλλον της χώρας και η προσαρμογή του άγριου αυτού είδους σε εντατικοποιημένη καλλιέργεια και βελτίωση ως προς τα ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά που το πλαισιώνουν, όπως το ‘τίναγμα’ του σπόρου (Andrzejewska et al. 2015). Στα πλαίσια της βελτίωσης αυτής χαρακτηριστική είναι η διμερής συμφωνία μεταξύ Πολωνίας και Ιταλίας και ανάπτυξη προγράμματος για εξέταση 28 γενότυπων του φυτού *S. marianum* ως προς την παραγωγικότητα και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του σε διάφορες περιοχές δύο χωρών (‘Production of bioenergy and useful biomolecules from *Silybum marianum*: screening of a collection of genotypes’) (Andrzejewska et al. 2015). Η καλλιέργεια του ως φαρμακευτικό φυτό απαιτεί ορισμένες βέλτιστες συνθήκες και μεταχειρίσεις για την μεγαλύτερη δυνατή ποσοτική και ποιοτική παραγωγικότητα του. Αναφορικά, η σπορά σε ελαφρά αμμώδη, η πρώιμη σπορά, η υψηλή εδαφική υγρασία και η μικρή συχνότητα άρδευσης αποκλειστικά σε περιόδους ξηρασίας, παρέχουν ικανοποιητική και βελτίωση της ποιότητας (αυξημένη συγκέντρωση σιλυμαρίνης στο σπόρο) (Andrzejewska et al. 2011, Karkanis et al. 2011). Μάλιστα σε συνθήκες ξηρασίας

ενισχύεται η παραγωγή σιλυμαρίνης στο σπόρο ως και 17 % σε σχέση με μια πλήρως αρδευόμενη καλλιέργεια (Keshavarz et al. 2015). Ωστόσο, στο παρελθόν έχει αναφερθεί πως μειωμένη άρδευση και χαμηλή ηλιοφάνεια κατά την γονιμοποίηση οδηγούν στη μικρότερη απόδοση σε σπόρο (Dodd 1989). Επιπλέον, η αραιή σπορά και η επαρκής καλιούχος λίπανση επιδρούν θετικά στην απόδοση της καλλιέργειας σε σπόρο, λόγω αύξησης του αριθμού των κεφαλών (Omer et al. 1993).

1.3 Το γαϊδουράγκαθο ως ζιζάνιο

Ορισμένα χαρακτηριστικά του συγκεκριμένου ζιζανίου είναι το 'τίναγμα' ή διασκορπισμός του σπόρου κατά την ωρίμανση, η ασύγχρονη άνθηση, τα αγκαθωτά φύλλα, το δυνατό ριζικό σύστημα, η καλή προσαρμοστικότητα σε όλους τους τύπους εδαφών, η ανεκτικότητα σε αλατούχα εδάφη, η ευρεία κλίμακα pH εδάφους στην οποία αναπτύσσεται και η ανθεκτικότητα σε συνθήκες έλλειψης εδαφικής υγρασίας. Όλα τα παραπάνω συνέβαλαν στην εγκατάσταση του και στην επέκτασή του στην περιοχή της Μεσογείου (Martinelli et al. 2016, Karkanis et al. 2011). Σε χώρες της Μεσογείου, της νότιας και βόρειας Αμερικής και της Μέσης Ανατολής αποτελεί δυσεξόντωτο ζιζάνιο και συναντάται σε πολλές ετήσιες χειμερινές και εαρινές καλλιέργειες (Khan et al. 2009). Σε περιοχές μάλιστα, όπως η νότια και δυτική Αυστραλία και Τασμάνια, έχει αναγνωρισθεί ως ζιζάνιο «καραντίνας» (Dodd 1989, Khan et al. 2009). Επίσης, συναντάται συχνά σε παράδρομους, όχθες καναλιών και βάλτους (AbouZid et al. 2016). Η προσαρμοστικότητα και η επιτυχής εγκατάστασή του ως ζιζάνιο σε διάφορα εδάφη και περιβάλλοντα καθώς η αυξημένη ανταγωνιστικότητά του έναντι σε άλλα ζιζάνια ή σε καλλιέργειες και η ανάπτυξη του εις βάρος αυτών οφείλονται στην γρήγορη βλαστική ανάπτυξή του (Gabay et al. 1994).

1.4 Μορφολογία φυτού

Το φυτό του γαϊδουράγκαθου αποτελείται από ένα κύριο κατακόρυφο στέλεχος με παχύ φλοιώμα και λεία επιφάνεια το οποίο διακλαδίζεται (Karkanis et al. 2011). Το ύψος του κύριου βλαστού κυμαίνεται από 1,5 έως 3 μέτρα, με οξύληκτα σκούρα πράσινα ως κυανά λεία φύλλα, μήκους 50-60 εκατοστά και πλάτους 20-30 εκατοστά, με χαρακτηριστικές λευκές νευρώσεις (Carrier et al. 2003, Ghavami and Ramin 2008, Khan et al., 2009, Karkanis et al. 2011). Η ταξιανθία βρίσκεται στην κορυφή του κύριου και των

πλευρικών βλαστών. Στην μεσογειακή και Βόρεια Αφρικανική ύπαιθρο, ενδημούν φυτά *S. marianum* με μωβ στεφάνη άνθους και με λευκή στεφάνη, με διάμετρο 5 εκατοστά (Karkanis et al. 2011, AbouZid et al. 2016, Chambers et al. 2017). Η διαφορά τους έγκειται στο ότι οι βιότυποι με μωβ χρώμα άνθους περιέχουν φλαβονολιγνάνες παραγόμενες από ταξιφολίνη, υψηλότερη περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες, ενώ οι βιότυποι με λευκό χρώμα άνθους περιέχουν επιπλέον 3-δεοξυ-φλαβονολιγνάνες όπως η σιλανδρίνη, η σιλυμονίνη και η σιλυχερμίνη (Vaknin et al. 2008, Poppe and Petersen 2016, Chambers et al. 2017). Τα άνθη είναι ερμαφρόδιτα, επιτυγχάνεται αυτογονιμοποίηση και η ασύγχρονη άνθιση αποτελεί χαρακτηριστικό της καλλιέργειας (Karkanis et al. 2011, Martinelli et al. 2016). Αξίζει να σημειωθεί πως τα αγρονομικά χαρακτηριστικά του φυτού επηρεάζονται περισσότερο από το γενετικό υπόβαθρο παρά από τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Gresta et al. 2006, Koláčková et al. 2015).

1.5 Βιολογικός κύκλος

Ο βιολογικός κύκλος του φυτού ως καλλιεργούμενο στην Νότια Ευρώπη, ξεκινά με την φθινοπωρινή σπορά. Η σπορά πραγματοποιείται σε βάθος ως 8 εκατοστά και βλαστάνει σε θερμοκρασίες 2-15 °C μετά το πέρας μίας ως τριών εβδομάδων (εξαρτάται κύρια από την θερμοκρασία περιβάλλοντος) (Martinelli et al. 2015). Ακολουθεί η δημιουργία του πρώτου ζεύγους πραγματικών φύλλων (με τις χαρακτηριστικές λευκές νευρώσεις (Martinelli et al. 2015)). Το πρώτο στάδιο βλαστικής ανάπτυξης είναι ο σχηματισμός ροζέτας το χειμώνα, η οποία αυξάνει σε διάμετρο (το πρώτο στάδιο πραγματοποιείται με αργούς ρυθμούς, ωστόσο το φυτό είναι ήδη αρκετά ανταγωνιστικό). Η κόμη του φυτού αυτού στο τέλος αυτού του σταδίου μπορεί να καλύψει ως και το 90% του εδάφους (Martinelli et al. 2015). Στις αρχές της άνοιξης ξεκινά η κατακόρυφη ανάπτυξη βλαστών με την δημιουργία της κεντρικής ταξιανθίας-κεφαλή (ορατά μόνο τα οξύληκτα βράκτια φύλλα στον άξονα του βλαστού) με τον κεντρικό βλαστό συχνά να προηγείται και οι επιμέρους να ακολουθούν (συνήθως 4 με 10 επιμέρους βλαστοί, αριθμός που μεταβάλλεται ανάλογα με την θερμοκρασία, πυκνότητα φύτευσης και γονιμότητα εδάφους) (Andrzejewska et al. 2015, Martinelli et al. 2015). Υψηλή θερμοκρασία στο στάδιο της καθ' ύψους βλαστικής ανάπτυξης, οδηγεί σε μικρότερο αριθμό αναπτυσσόμενων βλαστών αλλά σε μεγαλύτερο ποσοστό δημιουργίας σπόρων στις κύριες ανθοκεφαλές (Gresta et al. 2006). Το φυτό αυξάνει σε ύψος ραγδαία, ενώ η κεντρική ανθοκεφαλή αρχικά είναι κλειστή ενώ με την

πάροδο του χρόνου τα βράκτια ανοίγουν ενώ η ταξιανθία αποτελείται από 170-250 ανθίδια στην κορυφή των βλαστών (Martinelli et al. 2015). Ο αριθμός των ανθοκεφαλών ποικίλει ανάλογα με τις καλλιεργητικές φροντίδες και συνήθως το κάθε φυτό σχηματίζει από 2 έως 55 ανθοκεφαλές (Andrzejewska et al. 2015, Martinelli et al. 2015). Το στάδιο της ανθοφορίας διαρκεί περίπου ένα μήνα (Dodd 1989).). Στην συνέχεια ακολουθεί η γονιμοποίηση και η ανάπτυξη του σπόρου η οποία μπορεί να χαρακτηριστεί και συγχρονισμένη δεδομένης της ομοιομορφίας στην μορφολογία του σπόρου, με ελάχιστες αποκλίσεις (Martinelli et al. 2015). Σε επόμενο στάδιο λαμβάνει χώρα η σταδιακή ξήρανση των ανθών (εγκαταλείπουν το ιώδες χρώμα τους) με αποτέλεσμα τον καστανό αποχρωματισμό τους και το κιτρίνισμα-ξηράνση των βράκτιων φύλλων (Martinelli et al. 2015). Ο σπόρος θεωρείται ώριμος και έτοιμος για συγκομιδή με την εμφάνιση υπόλευκών ινών (πάππος) που είναι προσκολλημένες στην κορυφή του σπόρου και αποσπώνται με ευκολία από την ξεραμένη και πλήρως ανοιχτή ανθοκεφαλή. Η απόδοση σε σπόρο κυμαίνεται, ανάλογα με τις συνθήκες ανάπτυξης και καλλιέργειας, από 25-200 κιλά ανά στρέμμα (Andrzejewska et al. 2011, Karkanis et al. 2011, Andrzejewska et al. 2015). Αν δεν πραγματοποιηθεί έγκαιρη συγκομιδή, ο σπόρος ‘τινάζεται’ και το μητρικό φυτό νεκρώνεται εξ’ ολοκλήρου. Εχθροί του φυτού αποτελούν το κολεόπτερο *Rhinocyllus conicus* (Curculionidae) στο στάδιο της προνύμφης, το οποίο χρησιμοποιείται και ως βιολογικός παράγοντας καταπολέμησης του φυτού, το κολεόπτερο *Phyllotreta vittula* και η προνύμφη του λεπιδοπτέρου *Scotia segetum* (Dodd 1989, Nikolaychenko et al. 2017). Άλλοι εχθροί της καλλιέργειας περιλαμβάνουν τον μύκητα *Microbotryum silybum* που προκαλεί κηλιδώσεις, καθώς επίσης και τον ιό TSWV (Tomato Spotted Wilt Virus) (Karkanis et al. 2011).

1.6 Περιγραφή σπόρου

Ο ώριμος σπόρος είναι αχαίνιο με μήκος 5-8 χιλιοστά, πλάτος 2-3 χιλιοστά, πάχος 1,5 χιλιοστά και στην κορυφή του είναι προσκολλημένο χνούδι (υπόλευκες ίνες, που βοηθούν στο διασκορπισμό του σπόρου) (Abenavoli et al. 2010, Karkanis et al. 2011, Martinelli et al. 2015). Ανάλογα με το στάδιο της ωριμότητας το χρώμα του σπόρου ποικίλει. Οι σπόροι κατά το αρχικό στάδιο δημιουργίας τους έχουν υπόλευκο χρώμα. Καθώς ωριμάζουν το χρώμα τους μεταβάλλεται σε ανοιχτό καστανό και τέλος σε σκούρο καστανό ή και μαύρο με χαρακτηριστική γυαλάδα. Το ξηρό βάρος των 1000 σπόρων είναι

κατά μέσο όρο 21,5 γραμμάρια, με παραγωγή κατά μέσο όρο 190 σπόρων ανά ανθοκεφαλή (βάρους περίπου 0,02-7 γραμμάρια) και 450-6000 σπόρων ανά φυτό γαϊδουράγκαθο (Dodd 1989, Gabucci et al. 2002, Karkanis et al. 2011). Μάλιστα, ο αριθμός σπόρων ανά ανθοκεφαλή αυξάνεται με την αύξηση της διαμέτρου της ανθοκεφαλής και μειώνεται με την αύξηση του αριθμού των ανθοκεφαλών ανά φυτό (Gabucci et al. 2002). Η φυτρωτική τους ικανότητα αγγίζει το 94%, ενώ συνήθως δεν παρουσιάζουν λήθαργο (Sindel 1991, Karkanis et al. 2011).

1.6.1 Το έλαιο του σπόρου

Ο σπόρος εμπεριέχει έλαιο σε ποσοστό 18-31%, με πληθώρα πολυμερών πολυφαινόλων όπως τα λιπίδια (φωσφολιπίδια, ουδέτερα λίπη και στεροειδή) καθώς επίσης και πρωτεΐνη (Ghavami and Ramin 2008, Fathi-Achachlouei and Azadmard-Damirchi 2009). Επίσης, η περιεκτικότητα σε πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αγγίζει το 50%, ενώ τα κορεσμένα λιπαρά οξέα βρίσκονται σε 20% στο έλαιο (Fathi-Achachlouei and Azadmard-Damirchi 2009). Κύρια λιπαρά οξέα που απαντώνται στο έλαιο του σπόρου του *S. marianum* είναι τα εξής: λινελαϊκό οξύ, ελαϊκό οξύ, παλμιτικό οξύ, στεαρικό οξύ, λινολενικό οξύ, αραχιδικό οξύ, μυριστολεϊκό οξύ, γαδολεϊκό οξύ, βεχενικό οξύ, λαυρικό ελαϊκό οξύ, μυριστικό οξύ, παλμιτολεϊκό οξύ και μαργαρινικό οξύ (Chambers et al. 2017). Κυρίαρχα λιπαρά οξέα είναι το λινελαϊκό, ελαϊκό και παλμιτικό οξύ, με το πρώτο να κατέχει ποσοστό περίπου 60%, το δεύτερο περίπου 30% και το τρίτο περίπου 10% στο έλαιο του σπόρου, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις το ελαϊκό ξεπερνά σε περιεκτικότητα το λινελαϊκό οξύ (Abenavoli et al. 2010, Alemardan et al. 2013, Zhelev et al. 2014, Mhamdi et al. 2016). Τα στεροειδή που συναντώνται είναι η β-σιτοστερόλη, καμπεστερόλη, Δ7-καμπεστερόλη, Δ7-στιγμαστερόλη, στιγμαστερόλη, Δ5-αβεναστερόλη, Δ7-αβεναστερόλη και χοληστερόλη, με τις δυο πρώτες να απαντώνται στα μεγαλύτερα ποσοστά (Zhelev et al. 2014, Chambers et al. 2017). Τέλος, ανιχνεύονται φωσφολιπίδια όπως η φωσφατιδυλοχολίνη, φωσφατιδυλινωσιτόλη, φωσφατιδυλαιθανολαμίνη, φωσφατιδυλοσερίνη και διφωσφατιδυλογλυκερόλη, καθώς επίσης και τοκοφερόλες όπως η α-τοκοφερόλη, β-τοκοφερόλη και γ-τοκοφερόλη (Chambers et al. 2017). Άλλες ανιχνεύσιμες πολυφαινόλες είναι η λουτεολίνη, η κυναρίνη, η απιγενίνη, η μυρικετίνη, η κουερσετίνη, η κατεχίνη, το χλωρογενικό οξύ, το καφεϊκό οξύ και το φερουλικό οξύ, που συνδυαστικά χαρίζουν στο φυτό τις πολύτιμες αντιοξειδωτικές ιδιότητές του και οι

περιεκτικότητες τους ποικίλουν ανάλογα με τον εκάστοτε γενότυπο (Lucini et al. 2016). Η θερμοκρασία αποθήκευσης σπόρου είναι ένας ακόμη παράγοντας που επηρεάζει άμεσα την βλάστηση των σπόρων και παραγωγή φυτών και έμμεσα την ποσότητα της ολικής σιλυμαρίνης ή ποιοτικής απόδοσης της καλλιέργειας (Andrzejewska et al. 2017). Συγκεκριμένα, η χαμηλή θερμοκρασία αποθήκευσης σπόρου είχε θετική επίδραση στον αριθμό των φυτών ανά στρέμμα, ενώ όσο μεγαλύτερο είναι το βάρος 1000 σπόρων, τόσο υψηλότερος είναι ο αριθμός των φυτών ανά τετραγωνικό μέτρο (Andrzejewska et al. 2017).

1.6.2 Η σιλυμαρίνη και τα συστατικά της

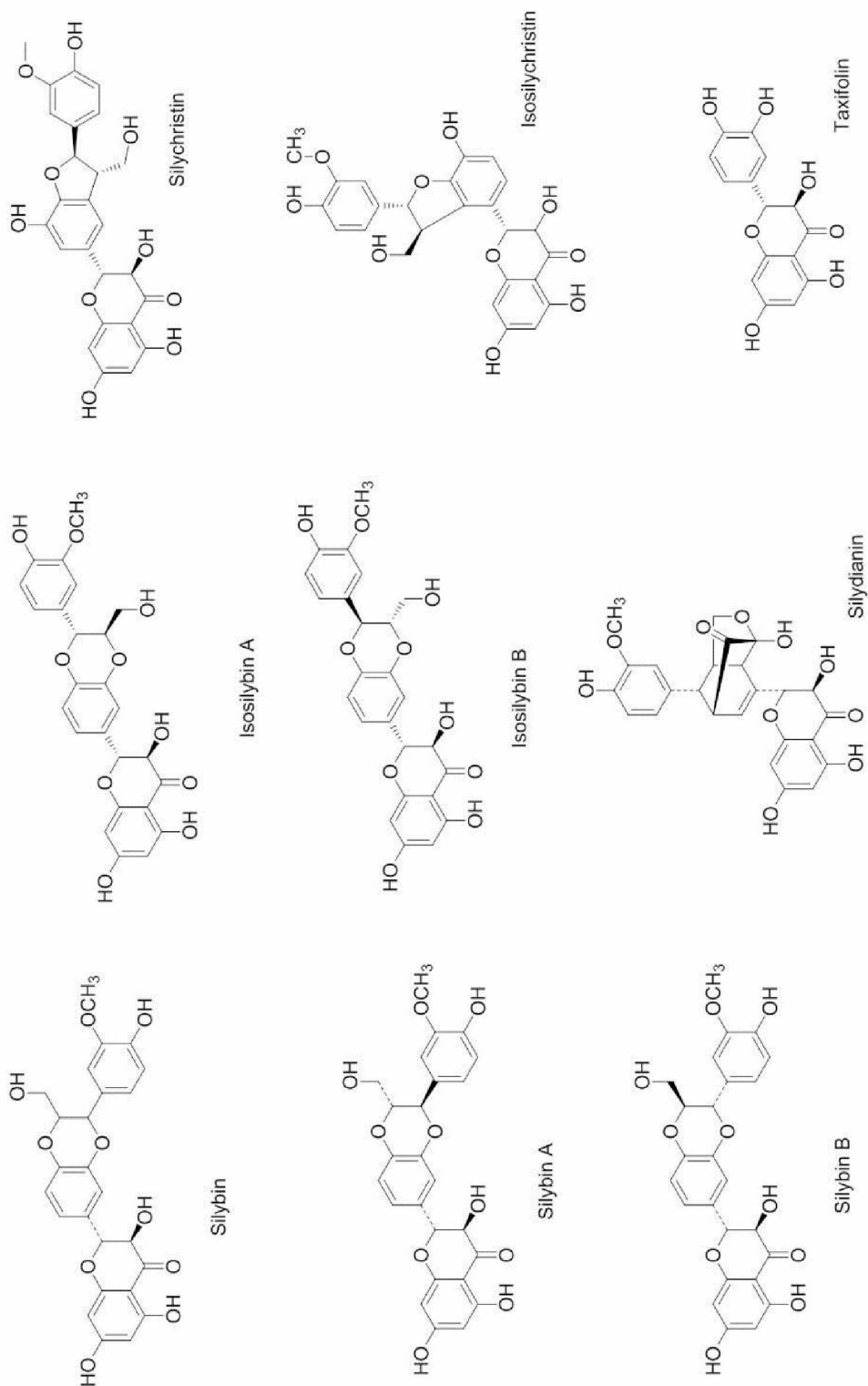
Ο σπόρος εμπεριέχει σύμπλεγμα βιοενεργών φλαβονολιγνάνων που συνθέτουν την σιλυμαρίνη. Οι φλαβονολιγνάνες που συνθέτουν την σιλυμαρίνη είναι η σιλυμπίνη (σιλυμπίνη A και σιλυμπίνη B), η ισοσιλυμπίνη (ισοσιλυμπίνη A και ισοσιλυμπίνη B), η σιλυκριστίνη, η ισοσιλυκριστίνη και η σιλυδιανίνη (Πίνακας 1) (Alemardan et al. 2013, Martinelli et al. 2016). Η σιλυμαρίνη που απαντάται στον γενότυπο με την ιώδη ταξιανθία, συνίσταται από φλαβονολιγνάνες, οι οποίες προέρχονται από την ένωση ενός φλαβονοειδούς με μία λιγνάνη και από πολυμερείς και οξειδωμένες πολυφαινολικές ενώσεις (Abenavoli et al. 2018). Η περιεχόμενη στον σπόρο σιλυμαρίνη κυμαίνεται συνήθως από 1-3% της ξηράς ουσίας, ενώ έχει καταγραφεί και ποσοστό 8% (Martin et al. 2006, Karkanis et al. 2011, Martinelli et al. 2016).

Πρόδρομος της βιοσύνθεσης της σιλυμαρίνης αποτελεί η ταξιφολίνη και η κονυφερίλική αλκοόλη, ένα φλαβονοειδές και φαινυλοπροπανοειδές αντίστοιχα, που συναντώνται στους γενοτύπους με την ιώδη ταξιανθία, η οποία και μελετάται στην παρούσα εργασία (Martinelli et al. 2016, Poppe and Petersen 2016, Chambers et al. 2017). Κύρια από τα συστατικά και σε ποσοστό 50% ως 70% της ολικής σιλυμαρίνης, αποτελεί η σιλυμπίνη [(silibinin)-(2R,3R)-3,5,7-trihydroxy-2-[(2R,3R)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-2,3-dihydrobenzo [b] [1,4]dioxin-6-yl]chroman-4-one], η οποία είναι μείγμα του διαστερεοϊσομερούς A ή silybinA[(2R,3R)-2-((2R,3R)-2,3-dihydro-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-1,4-benzodioxin-6-yl)-2,3-dihydro-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one]και διαστερεοϊσομερούς B ή silybin B [(2R,3R)-2-(2S,3S)-2,3-dihydro-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-(hydroxymethyl)-1,4-benzodioxin-6-yl)-2,3-dihydro-3,5,7-trihydroxy-4H-1-benzopyran-4-one] (Abenavoli et al. 2010). Ακολουθούν η ισοσιλυμπίνη (με διαστερεοϊσομερή isosilybin A και isosilybin B), η

σιλυκριστίνη (έχει ταυτοποιηθεί και η σιλυκριστίνη Β), η ισοσιλυκριστίνη και η δομικά πολυπλοκότερη φλαβονολιγνάνη σιλυδιανίνη (Alemardan et al. 2013, AbouZid et al. 2016, Mhamdi et al. 2016, Chambers et al. 2017, Martinelli et al. 2017). Όλα τα παραπάνω συστατικά αποτελούν το 65-80% της εκχυλισμένης σιλυμαρίνης, ωστόσο το περιεχόμενο και η σύνθεση της εξαρτώνται από τους εκάστοτε γενοτύπους (Εικόνα 2) (Alemardan et al. 2013, AbouZid et al. 2016, Abenavoli et al. 2018). Διαφορετικοί γενοτύποι έχουν επίσης διαφορετική απόδοση σε σιλυμπίνη, το κυρίαρχο βιοενεργό συστατικό, η οποία κυμαίνεται από 3086 ως 9499 mg/kg (Lucini et al. 2016). Έχουν αναγνωρισθεί μέχρι σήμερα δυο χημειότυποι της ποικιλίας με μωβ ταξιανθία: μία με υψηλά επίπεδα σιλυμπίνης (έναντι της σιλυδιανίνης) και η δεύτερη με υψηλά επίπεδα σιλυδιανίνης (έναντι της σιλυμπίνης) (Alemardan et al. 2013). Επομένως ισχύει η αρνητική συσχέτιση μεταξύ της περιεχόμενης σιλυμπίνης και σιλυδιανίνης, ενώ δεν υπάρχει καμία συσχέτιση μεταξύ της ολικής σιλυμαρίνης και σχετικής περιεκτικότητας της σιλυμπίνης (Martinelli et al. 2016). Μία από τις μεθόδους εκχύλισης της σιλυμαρίνης από τους σπόρους του *Silybum marianum* (η οποία έχει εφαρμοσθεί και στο παρόν πείραμα) είναι η Soxhlet εκχύλιση 8 ωρών, με αρχική αφαίρεση των λιπών και εν συνεχεία εκχύλιση σιλυμαρίνης χρήσει μεθανόλης για 5 ώρες, βάσει της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας (AbouZid et al. 2016). Πλέον, υπάρχει αρκετή αντιπαράθεση για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, εξαιτίας των απωλειών σε σιλυμαρίνη που σημειώνονται κατά την εκχύλιση των λιπιδίων (AbouZid et al. 2016).

Πίνακας 1. Τα συστατικά της σιλυμαρίνης.

Ονομασία	Στοιχείο	Διαστερεοϊσομερή
σιλυμπίνη	φλαβονολιγνάνη	σιλυμπίνη Α σιλυμπίνη Β
ισοσιλυμπίνη	φλαβονολιγνάνη	ισοσιλυμπίνη Α ισοσιλυμπίνη Β
σιλυκριστίνη	φλαβονολιγνάνη	
ισοσιλυκριστίνη	φλαβονολιγνάνη	
σιλυδιανίνη	φλαβονολιγνάνη	
ταξιφολίνη	φλαβονοειδές	



Εικόνα 2. Συστατικά της σιλυμαρίνης, συμπεριλαμβανομένων των κύριων φλαβονολιγνάνων με τα διαστερεοϊσομερή τους και του φλαβονοειδούς ταξιφολίνη (Wang et al. 2016).

Ονομασία	Χώρα προέλευσης	Βιβλιογραφική πηγή
CN-seed	Αγγλία	Fathi-Achachlouei and Azadmard Damirchi 2009
BVAL-901047	Αυστρία	Lucini et al. 2016
BVAL-901578 (γενότυπος της ποικιλίας De Prahova)	Αυστρία	Lucini et al. 2016
BG3	Βουλγαρία	Lucini et al. 2016
SIL 1	Γερμανία	Lucini et al. 2016
SIL 2	Γερμανία	Lucini et al. 2016
SIL 4	Γερμανία	Lucini et al. 2016
SIL 10	Γερμανία	Lucini et al. 2016
SIL 8	Γερμανία	Lucini et al. 2016
Babak Castle	Ιράν	Fathi-Achachlouei et al. 2009
Khoreslo	Ιράν	Fathi-Achachlouei et al. 2009
Argintiu	Μολδαβία	Alemardan et al. 2013
Budakalaszi	Ουγγαρία	Fathi-Achachlouei et al. 2009
RCAT 040358 HUN	Ουγγαρία	Lucini et al. 2016
RCAT 040360 DDR	Ουγγαρία	Lucini et al. 2016
RCAT 074546 ESP	Ουγγαρία	Lucini et al. 2016
RCAT 077005 DEU	Ουγγαρία	Lucini et al. 2016
Budakalaszi Szibilla	Ουγγαρία	Shokrpour et al. 2008
Silma	Πολωνία	Alemardan et al. 2013
De Prahova	Ρουμανία	Kolackova et al. 2015
Amulet	Ρωσία	Nikolaychenko et al. 2017
Samaryanka	Ρωσία	Nikolaychenko et al. 2017
Panacea	Ρωσία	Nikolaychenko et al. 2017
Debut	Ρωσία	Nikolaychenko et al. 2017
Nadezhda	Ρωσία	Nikolaychenko et al. 2017
Silyb	Τσεχία	Kolackova et al. 2015
iSilyb (γενότυπος της ποικιλίας Silyb)	Τσεχία	Lucini et al. 2016
Mirel Silyb	Τσεχία	Ruzickova et al. 2011

Εικόνα 3. Διάφορες καλλιεργούμενες ποικιλίες και γενότυποι γαϊδουράγκαθων ανά τον κόσμο.

1.7 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη και την απόδοση του γαϊδουράγκαθου

Μελέτες δείχνουν ότι τα φυτά που εγκαθίστανται και καλλιεργούνται σε μία περιοχή με σκοπό την φαρμακευτική τους χρήση έχουν μικρότερη ποικιλομορφία στο γενότυπό τους από ότι τα φυτά που αυτοφυούν σε μία περιοχή (Martinelli et al. 2016). Ως περιοριστικός παράγοντας στην ανάπτυξη των φυτών, εκτός των καιρικών συνθηκών κατά το φύτερωμα και ανάπτυξη της ανθοκεφαλής, αναφέρεται και το υψόμετρο άνω των 500 μέτρων (Koláčková et al. 2015). Επιπλέον, τα γαϊδουράγκαθα που καλλιεργούνται σε γόνιμα εδάφη, συνοδευόμενα από επαρκή λίπανση και άρδευση, αυξάνουν την ανταγωνιστική τους ικανότητα και εμφανίζουν πλούσια βλάστηση η οποία δεν είναι πάντοτε επιθυμητή, εξαιτίας της δυσκολίας που συναντάται κατά την μηχανική συγκομιδή (Khan et al. 2009,

Andrzejewska et al. 2011). Συγκεκριμένα, η αυξημένη καλιούχα λίπανση οδηγεί σε αύξηση ποσοστού ανθοκεφαλών και συνολικών συγκομισμένων σπόρων, χωρίς ωστόσο ιδιαίτερη επίδραση στην περιεκτικότητα των φλαβονολιγνάνων (Omer et al. 1993). Η αραιή φύτευση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης και απόδοσης σε φλαβονολιγνάνες (Omer et al. 1993). Υψηλή θερμοκρασία στο στάδιο της καθ' ύψους βλαστικής ανάπτυξης, οδηγεί σε μικρότερο αριθμό αναπτυσσόμενων βλαστών αλλά σε μεγαλύτερο ποσοστό δημιουργίας σπόρων στις κύριες ανθοκεφαλές (Gresta et al. 2006). Η αλατότητα έχει εκτενώς αναφερθεί ως σημαντικός παράγοντας μείωσης της απόδοσης σε σπόρο, μείωσης του ρυθμού ανάπτυξης, μείωση αριθμού επιμέρους βλαστών και μείωση βάρους σπόρου (Ghavami and Ramin 2008). Επιπλέον αυξημένη αλατότητα εδάφους έχει αρνητικό αντίκτυπο στην παραγωγή ελαίου από το σπόρο, αλλά θετικές επιδράσεις στην παραγωγή των ενεργών συστατικών της σιλυμαρίνης (Ghavami and Ramin 2008). Σε εγκλιματισμένους σε νέα περιοχή πληθυσμούς, η άρδευση δεν μεταβάλλει το ποσοστό των λιπαρών οξέων του ελαίου σε αντίθεση με τα λιπαρά οξέα των αυτοφυών φυτών που επηρεάζονται αρνητικά ως προς αυτήν την παράμετρο (Fathi-Achachlouei and Azadmard-Damirchi 2009). Δυσκολίες κατά την συγκομιδή προκαλούν η ασύγχρονη άνθηση, το μεγάλο ύψος των φυτών και το 'τίναγμα' του σπόρου, οι οποίες μάλιστα οδηγούν σε απώλειες παραγωγής σπόρου ως και 50% (Alemardan et al. 2013). Η γενετική βελτίωση στοχεύει σε παραγωγή φυτών ψηλότερων, με λιγότερους παραγόμενους επιμέρους βλαστούς, καθώς με αυτό τον τρόπο ενισχύεται η ποιοτική απόδοση των σπόρων σε σιλυμαρίνη (Gresta et al. 2006).

1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν την περιεκτικότητα σε σιλυμαρίνη και τα συστατικά της

Πολλοί είναι παράγοντες που επηρεάζουν την ποσότητα και ποιότητα της σιλυμαρίνης στο γαϊδουράγκαθο. Η περιοχή της καλλιέργειας, οι διαφορετικές ποικιλίες και το γενετικό υπόβαθρό τους, οι εδαφοκλιματικές και αγρονομικές παράμετροι επηρεάζουν κύρια την ποσότητα της ολικής σιλυμαρίνης του σπόρου (AbouZid et al. 2016, Chambers et al. 2017). Η πρόιμη σπορά φαίνεται να έχει ευεργετική επίδραση στην ολική ποσότητα σιλυμαρίνης στο σπόρο αν και δεν είναι πανάκεια. Παρότι τα σημαντικότερα ποσά σιλυμαρίνης ανήκουν στο σπόρο, ωστόσο στα άνθη και στις ρίζες ανιχνεύθηκαν ελάχιστες ποσότητες σιλυκριστίνης B και σιλυμπίνης B, ενώ σε φύλλα και βλαστούς είναι μηδαμινές

(Martin et al. 2006). Ακόμη, διαφορετικοί γενότυποι από διαφορετικές χώρες εμφανίζουν διαφορές στην περιεκτικότητα των συστατικών, όπως η εμφάνιση αυξημένων ποσοστών σιλυδιανίνης που απαντώνται σε πολωνικούς γενότυπους και αυξημένα ποσοστά σιλυμπίνης B σε γερμανικούς γενότυπους (Martin et al. 2006). Συνεπώς, η αναλογία των συστατικών και η περιεκτικότητά τους στην ολική ποσότητα εκχυλισμένης σιλυμαρίνης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την χημειοτυπική πολυμορφία των ποικιλιών (Porpe and Petersen 2016). Σαφώς ο χρόνος συγκομιδής και το στάδιο ανάπτυξης ή αλλιώς η ωριμότητα σπόρου, είναι άμεσοι παράμετροι που καθορίζουν την τελική ποσότητα συλλεγόμενης σιλυμαρίνης (AbouZid et al. 2016). Μακρά περίοδος ξηρασίας κατά την καλλιέργεια, έχει ως αποτέλεσμα την βελτίωση του ποσοστού της περιεχόμενης στο σπόρο σιλυμαρίνης και ιδιαίτερα της σιλυμπίνης που ομολογουμένως κατέχει τον σημαντικότερο βιοενεργό ρόλο από τα υπόλοιπα συστατικά (Keshavarz et al. 2015). Οικότυποι οι οποίοι συνδυάζουν παραγωγή σπόρων μεγαλύτερου μεγέθους, πρώιμη άνθιση, χαμηλό ύψος φυτού και μικρή διάμετρο ροζέτας, τείνουν να εμφανίζουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε σιλυκριστίνη και σιλυμπίνη αλλά μικρότερη περιεκτικότητα σε σιλυδιανίνη, αν και υπάρχουν έρευνες που υποστηρίζουν πως η όψιμη άνθιση και συγκομιδή ενισχύουν το ποσοστό της ολικής σιλυμαρίνης στο σπόρο (Carrier et al. 2003, Shokrpour et al. 2008). Η μεταχείριση των σπόρων κατά την εκχύλιση, καθώς και η ίδια η μέθοδος εκχύλισης, επηρεάζουν την περιεκτικότητα των συστατικών της καθαρής σιλυμαρίνης, όπως το έντονο άλεσμα που ως αποτέλεσμα έχει την μειωμένη ποσότητα ταξιφολίνης και ισοσυλιμπίνης A (Martinelli et al. 2016, Chambers et al. 2017). Η υψηλή περιεκτικότητα των σπόρων σε σιλυμαρίνη είναι πιθανό να οφείλεται σε έκθεση του φυτού σε μακρά φωτοπερίοδο, υψηλές θερμοκρασίες ημέρας και χαμηλές θερμοκρασίες νύχτας (Carrier et al. 2003). Έχουν γίνει ελάχιστες έρευνες πάνω στην ανταγωνιστική συμπεριφορά των ζιζανίων στην καλλιέργεια του *Silybum marianum*, καθώς επίσης υπάρχουν ελάχιστες πληροφορίες σχετικά με το πως επηρεάζουν την ποσότητα της σιλυμαρίνης. Συγκεκριμένα ο Zheljiazkon (2006), κατέγραψε θετική συσχέτιση μεταξύ χημικής καταπολέμησης ζιζανίων και περιεκτικότητας των σπόρων σε ολική σιλυμαρίνη και αρνητική συσχέτιση με την περιεκτικότητα σε έλαιο. Ωστόσο υποστηρίζεται πως η αύξηση αυτή είναι αποτέλεσμα της αυξημένης απόδοσης σε σπόρο και όχι της ενεργής παραγωγής σιλυμαρίνης στο εκάστοτε φυτό (Andrezejewska et al. 2011).

1.9 Επίδραση της ζιζανιοχλωρίδας στην απόδοση των καλλιεργειών

Ως ζιζάνιο χαρακτηρίζεται κάθε αυτοφυές φυτό το οποίο ανταγωνίζεται την καλλιέργεια στην εκμετάλλευση των φυσικών πόρων (νερό, θρεπτικά συστατικά, φως), εμφανίζει αλληλοπαθητική επίδραση ή παρασιτεί επί αυτής, ενώ ακόμη δυσχεραίνει την βιωσιμότητα και την απόδοση των καλλιεργούμενων φυτών με οποιονδήποτε τρόπο (Ελευθεροχωρινός 2014). Η παρουσία των ζιζανίων κατά την καλλιεργητική περίοδο επηρεάζει αρνητικά τόσο την ποιοτική όσο και την ποσοτική απόδοση της καλλιέργειας, σε μικρότερο ή μεγαλύτερο βαθμό. Τα ζιζάνια δύναται να προκαλέσουν σοβαρές ζημιές και απώλειες της τάξης του 70% της απόδοσης σε ευαίσθητες καλλιέργειες. Ωστόσο, ο βαθμός της ζημιάς εξαρτάται όχι μόνο από το είδος του ζιζανίου, αλλά και από την πυκνότητα βλάστησης τους και το είδος της καλλιέργειας ή την εκάστοτε ποικιλία καλλιέργειας. Έχει σημειωθεί μείωση της απόδοσης κριθαριού ως και 50% με υψηλή πυκνότητα ζιζανίων ενώ με χαμηλή πυκνότητα ζιζανίων η μείωση της απόδοσης ανέρχονταν μόλις στο 10% (Tomner et al. 1991). Όσον αφορά το είδος της καλλιέργειας, αναφέρεται πως η απόδοση των καλλιεργειών σιταριού και τριτικάλε με υψηλή ευαισθησία στον ανταγωνισμό από ζιζάνια, μειώθηκε ως και 27% εξαιτίας της επίδρασης του άγριου σιναπιού (*Sinapis arvensis*), ενώ η αντίστοιχη μείωση της απόδοσης μιας ποικιλίας κριθαριού ανέρχονταν μόλις στο 3,5% (Dhima και Eleftherohorinos 2005).

Σημαντικό ρόλο στην ανταγωνιστικότητα τόσο των ζιζανίων όσο και της καλλιέργειας, παίζουν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους, όπως το ύψος, το μέγεθος σπόρου, το σχήμα και η πυκνότητα του φυλλώματος, η βιομάζα τους στα αρχικά στάδια ανάπτυξης, ο ρυθμός αύξησης της ρίζας και των υπέργειων βλαστών, ακόμα και η αλληλοπαθητική ικανότητά τους (Dhima et al. 2008, Efthimiadou et al. 2009).

Τα ζιζάνια του παρόντος πειράματος είναι ετήσια χειμερινά συμπεριλαμβανομένων της παπαρούνας, άγριου σιναπιού, μυρωνιού, αναγαλλίδας, ανθεμίδας, βερόνικας και στελλάριας. Τα χειμερινά ετήσια ζιζάνια ολοκληρώνουν τον βιολογικό τους κύκλο και παράγουν σπόρο μέχρι την έναρξη του θέρους. Η επιβίωση και εξάπλωση τους στον αγρό βασίζεται κύρια στην υψηλή παραγωγή και βιωσιμότητα των σπόρων τους, ενώ η υγρασία και η θερμοκρασία επηρεάζουν άμεσα τη βλάστηση τους (Ελευθεροχωρινός 2014). Συγκεκριμένα, η στελλάρια (*Stellaria media*) χαρακτηρίζεται από επίμονη εμφάνιση κάθε έτος σε καλλιεργήσιμες εκτάσεις, λόγω της υψηλής μακροβιότητας των σπόρων της, ενώ κάτω από τους -3,3 °C σταματά η ομαλή αύξηση της βιομάζας του υπέργειου τμήματος της

(Efthimiadou et al. 2009, Ελευθεροχωρινός 2014). Το άγριο σινάπι (*Sinapis arvensis*), σε συνθήκες ξηρασίας, εμφανίζει μειωμένους ρυθμούς ανάπτυξης και ανταγωνιστικότητας ενώ ακόμη η σποροπαραγωγή του φυτού επηρεάζεται αρνητικά (μειωμένος αριθμός βιώσιμων σπόρων κ.α.) (Efthimiadou et al. 2009). Οι Dhima και Eleftherohorinos (2005) αναφέρουν μάλιστα πως η ανταγωνιστική συμπεριφορά του άγριου σιναπιού ξεκινά από τις αρχές Απριλίου, οπότε και είναι απαραίτητη η αντιμετώπισή του ήδη από τα μέσα Μαρτίου, ώστε να μην προκαλέσει απώλειες στην παραγωγή των αγρωστωδών. Σημαντική παρουσία στον αγρό έχει και η παπαρούνα (*Papaver rhoeas*) με ρυθμό ετήσιας μείωσης βλαστανόντων σπόρων μόλις στο 2-16% (Efthimiadou et al. 2009). Η βερόνικα (*Veronica hederifolia*) επέρχεται σε ενδογενή λήθαργο εξαιτίας της έλλειψης ουσιών που επάγουν το φύτευμα, όπως το γιββερλινικό οξύ, ενώ υπό συνθήκες υψηλής εδαφικής γονιμότητας ή επαρκούς λίπανσης επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή σταχυδίων και συνεπώς καρπών στην καλλιέργεια σιταριού (Angonin et al. 1996, Ελευθεροχωρινός 2014). Η βερόνικα αποτελεί απειλή για την καλλιέργεια όταν έχει υψηλή πυκνότητα φυτρώματος, προχωρημένο στάδιο ανάπτυξης και όταν βρίσκεται σε έδαφος με υψηλή γονιμότητα (Angonin et al. 1996).

Αξίζει, τέλος να αναφερθεί πως η παρουσία των ζιζανίων στο χωράφι, δεν επηρεάζει μόνο την ποσοτική απόδοση της καλλιέργειας κατά την συγκομιδή. Η ζιζανιοχλωρίδα επιδρά αρνητικά και στα μορφολογικά χαρακτηριστικά της καλλιέργειας ήδη από τα αρχικά στάδια ανάπτυξης, που οδηγούν εν τέλει σε μια σχετική απώλεια (είτε στην ολική βιομάζα, είτε στην απόδοση στον σπόρο, είτε ακόμη και στο βάρος των σπόρων) κατά την συγκομιδή. Για παράδειγμα η ύπαρξη μεγάλου πληθυσμού αγριοβρώμης σε καλλιέργεια κριθαριού, είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του αριθμού των σχηματιζόμενων αδελφιών, γεγονός που οδήγησε σε μετέπειτα μειωμένη απόδοση σε βιομάζα (Torner et al. 1991).

Συνοπτικά, για την αποτελεσματική καταπολέμηση των ζιζανίων ώστε αυτά να μην ζημιώνουν την καλλιέργεια, πέραν των χημικών επεμβάσεων, συνίστανται η υψηλή πυκνότητα φύτευσης, η επιλογή καλλιέργειας ανθεκτικής στον ανταγωνισμό από ζιζάνια ή και η γενετική βελτίωση επιλεγμένων καλλιεργειών ώστε να είναι πιο ανταγωνιστικές. Ακόμη σημαντική κρίνεται η επιλογή καλλιεργειών με αλληλοπαθητική ιδιότητα, όπως αυτή του κριθαριού και της σίκαλης, οι οποίες εκκρίνουν αλληλοπαθητικές ουσίες όπως διάφορα αλκαλοειδή (Dhima et al. 2008).

1.10 Επίδραση της πυκνότητας στη ζιζανιοχλωρίδα

Έχει πραγματοποιηθεί αναφορά σχετικά με τις απώλειες που αποδίδονται στην παρουσία ζιζανίων. Ωστόσο είναι απαραίτητη η ανασκόπηση βιβλιογραφίας και για την πυκνότητα σποράς. Η πυκνότητα της καλλιέργειας επηρεάζει άλλοτε σημαντικά και άλλοτε ελάχιστα την ευρωστία, την σποροπαραγωγή, την βιομάζα, αλλά και την αλληλεπίδραση της καλλιέργειας με τα διάφορα είδη ζιζανίων. Έχει βρεθεί πως αραιή πυκνότητα σποράς σε καλλιέργεια σιταριού, έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη απόδοση σε σπόρο και αυτό αποδίδεται εν μέρει στην αυξημένη βιομάζα των ζιζανίων στην πυκνότητα αυτή (Champion et al. 1998). Μάλιστα, οι Olsen et al. (2005) αναφέρουν πως αυξημένη πυκνότητα σποράς, με οποιοδήποτε τεχνική σποράς (σε σειρές ή μη γραμμική), είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της συνολικής βιομάζας των ζιζανίων, που εν τέλει ωφέλησε την απόδοση της καλλιέργειας. Οι παραπάνω έρευνες αποδεικνύουν την σημαντική αλληλεπίδραση των δυο παραγόντων αυτών (πυκνότητα και ζιζάνια) και πως δύναται ο συνδυασμός τους να αποβεί επιζήμιος ή επικερδής για την καλλιέργεια.

Η πυκνότητα των καλλιεργούμενων φυτών θεωρείται ο σημαντικότερος παράγοντας κατά τα αρχικά στάδια ανάπτυξης των ζιζανίων, ενώ σε μετέπειτα στάδια, βαρύτητα δίνεται στα μορφολογικά χαρακτηριστικά της ρίζας και γενικά αγρονομικά χαρακτηριστικά της καλλιέργειας (Champion et al. 1998). Εκτός της πυκνότητας σποράς των καλλιεργούμενων φυτών, μεγάλη επίδραση στην παραγωγή έχει και η πυκνότητα των ζιζανίων στον αγρό. Έχουν καταγραφεί μεγάλες απώλειες παραγωγής σε καλλιέργεια ευαίσθητου πληθυσμού κριθαριού (της τάξης του 50%) εξαιτίας της υψηλής πυκνότητας σιναπιού στον αγρό (Dima and Eleftherohorinos 2005).

Ωστόσο, η πυκνότητα σποράς δεν αφορά τόσο άμεσα τη βιομάζα των ζιζανίων, όσο των καλλιεργούμενων. Υπάρχει μια γενικότερη τάση αύξησης της βιομάζας των αγρωστωδών, όταν αυτά σπέρνονται σε μεγαλύτερη πυκνότητα, ανεξαρτήτως μοτίβου σποράς. Βέβαια, σπορά σιταριού σε υπερβολικά μεγάλη πυκνότητα (1000 σπόροι/m²), εμφάνισε μικρότερη τάση αύξησης βιομάζας σε σχέση με την αμέσως μικρότερη πυκνότητα σποράς (720 σπόροι/m²) σε πείραμα των Olsen et al. (2005), ενώ επίσης σημειώθηκε αύξηση της απόδοσης σε σπόρο για την ίδια καλλιέργεια λόγω υψηλής πυκνότητας σποράς.

Αρκετές έρευνες έχουν γίνει περί της ανταγωνιστικής δράσης των ζιζανίων και της επίδρασης της πυκνότητας σποράς στην ανάπτυξη και απόδοση των αγρωστωδών καλλιεργειών. Ωστόσο ελάχιστες αφορούν την καλλιέργεια του γαϊδουράγκαθου, ενός

φαρμακευτικού φυτού με μεγάλη προοπτική ανάπτυξης στην χώρα μας. Η παρούσα εργασία δύναται να ερευνήσει τη συμπεριφορά του *Silybum marianum* ως ξηρική καλλιέργεια, υπό συνθήκες ανταγωνισμού με χειμερινά ζιζάνια σε διαφορετικές πυκνότητες σποράς. Αναμένεται να αναλυθεί η πορεία ανάπτυξης του φυτού καθώς και η τελική απόδοση της καλλιέργειας σε σπόρο, έλαιο και σιλυμαρίνη σε πείραμα αγρού.

1.11 Φαρμακευτικές χρήσεις της σιλυμαρίνης

Οι φλαβονολιγνάνες που συνιστούν τη σιλυμαρίνη διαθέτουν πολυάριθμες αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και ανοσορυθμιστικές ιδιότητες (Chambers et al. 2017, Abenavoli et al. 2018). Οι ιδιότητες αυτές σχετίζονται σημαντικά με την ηπατοπροστατευτική δράση που παρουσιάζει η σιλυμαρίνη (Chambers et al. 2017). Η σιλυμπίνη, ως η κύρια φλαβονολιγνάνη της σιλυμαρίνης, απορροφάται από τον γαστρεντερικό σωλήνα όπου και κυκλοφορεί προκαλώντας αντιδράσεις, που ως αποτέλεσμα έχουν το σχηματισμό γλυκουρονιδίων σιλυμπίνης και απομακρύνεται μέσω της χολικής απέκκρισης (Abenavoli et al. 2018). Πλεονεκτήματα της κίνησης αυτής είναι η γενικευμένη δράση ενάντια σε ηπατοπάθειες (όπως η αλκοολική κίρρωση του ήπατος και η μη-αλκοολική λιπώδης διήθηση του ήπατος) και καρκινογενέσεις, αφού μπλοκάρουν τα στάδια της καρκινογένεσης, προάγουν τον σχηματισμό των ριβοσωμάτων και την αναδόμηση των ηπατικών κυττάρων και αποκαθιστούν τη φυσιολογική λειτουργία του ήπατος (Vaknin et al. 2008, Abenavoli et al. 2018). Η σιλυμαρίνη χρησιμοποιείται κύρια στη θεραπεία της αλκοολικής κίρρωσης του ήπατος, της ηπατικής ίνωσης και της ιογενούς ηπατίτιδας, καθώς αναστέλλει τον ιό της ηπατίτιδας C (HCV) και προλαμβάνει την απορρόφηση τοξινών από τα κύτταρα του ήπατος (Abenavoli et al. 2010, Alemardan et al. 2013). Ενθαρρυντικά είναι τα στοιχεία που αφορούν την καταπολέμηση του καρκίνου του προστάτη, καθότι η σιλυμπίνη φαίνεται να αναστέλλει την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων και όγκων που οφείλονται σε ορμονικές διαταραχές (Křen and Walterová 2005, Shokrpour et al. 2008). Ωστόσο, απαιτείται αρκετή έρευνα πάνω στην βελτίωση της αποδοτικότητας της σιλυμαρίνης ως θεραπεία ενάντια σε περισσότερες μορφές καρκίνου. Μία ακόμη ιδιαίτερη δράση της σιλυμαρίνης είναι η μείωση της ηπατοτοξικότητας μετά από χημειοθεραπεία και γενικότερα η μείωση των δυσμενών τοξικών επιδράσεων της χημειοθεραπείας (Křen and Walterová 2005, Alemardan et al. 2013, Chambers et al. 2017). Προσφέρει προστασία στο δέρμα από την UV ακτινοβολία επιβραδύνοντας τη γήρανση, καθώς επίσης αναστέλλει της δυσμενείς επιδράσεις της UVB ακτινοβολίας και επανορθώνει ζημιές λόγω UVA ακτινοβολίας (Chambers et al. 2017). Η πρόληψη και

θεραπεία γαστρεντερικών και καρδιοπνευμονικών προβλημάτων όπως και νεφροπαθειών, αποτελεί σημαίνων έργο της σιλυμαρίνης, ενώ η πρόληψη νευροτοξικών αντιδράσεων και προστασία ιστών από το οξειδωτικό στρες, αποδίδονται στην αντιοξειδωτική της ικανότητα (Křen and Walterová 2005, Abenavoli et al. 2010). Άλλες φαρμακευτικές χρήσεις της σιλυμαρίνης περιλαμβάνουν την δράση της ενάντια στην χοληστερολαιμία λόγω αυξημένης περιεκτικότητας σε φυτοστερόλες, δράση έναντι νόσων του καρδιοαναπνευστικού χάρη στην περιεκτικότητά του σε τοκοφερόλες, ενώ επίσης προάγει την παραγωγή μητρικού γάλακτος (Shokrpour et al. 2008, Fathi-Achachlouei and Azadmard-Damirchi 2009, Abenavoli et al. 2010). Στην Ευρώπη διατίθεται ταμπλέτες σιλυμαρίνης για χρήση ενάντια στη δηλητηρίαση απόμανιτάρια.

1.12 Παρενέργειες της σιλυμαρίνης

Σε Καλιφόρνια και Αυστραλία έχουν αναφερθεί θάνατοι εκτρεφόμενων ζώων ύστερα από κατανάλωση γαϊδουράγκαθων, εξαιτίας δηλητηρίασης από νιτρικά άλατα τα οποία συσσωρεύει το φυτό (Khan et al. 2009). Αποτελεί, ακόμη, απειλή για την βιοποικιλότητα της Καλιφορνέζικης υπαίθρου εξαιτίας της υψηλής πυκνότητας του σε διάφορες περιοχές (Khan et al. 2009). Ζημιογόνα είναι και η αλληλοπαθητική δράση του φυτού, με δυσμενείς επιδράσεις στη βλάστηση σιταριού και σόργου (Khan et al. 2009). Όσον αφορά την ανθρώπινη κατανάλωση, ελάχιστα είναι τα περιστατικά γαστρεντερικής ενόχλησης και σπανιότερα αλλεργικής αντίδρασης (Post-White et al. 2007, Alemardan et al. 2013).

1.13 Άλλες χρήσεις του γαϊδουράγκαθου

Πέραν των φαρμακευτικών χρήσεων της σιλυμαρίνης, το έλαιο των σπόρων θεωρείται εξαιρετική πηγή βιταμίνης E, με υψηλή περιεκτικότητα σε ακόρεστα λιπαρά οξέα, τοκοφερόλες και φυτοστερόλες, καθιστώντας το θρεπτικό και κατάλληλο για ανθρώπινη κατανάλωση (Zhelev et al. 2014). Εκτός της χρήσης του σπόρου για εξαγωγή εδώδιμου ελαίου, νέες μελέτες αναδεικνύουν τον ανώριμο βλαστό του γαϊδουράγκαθου ως πλούσια πηγή αντιοξειδωτικών και πολυφαινολών, που καταναλώνεται ως εδώδιμο με πληθώρα ποιοτικών χαρακτηριστικών (Vaknin et al. 2008). Μάλιστα, πραγματοποιούνταν ευρεία κατανάλωση ανώριμων βλαστών ήδη από τον αραβικό κόσμο του Ισραήλ λόγω των αντιοξειδωτικών και ευεργετικών επιδράσεων στη μείωση της χοληστερίνης (Vaknin et al.

2008). Συνίσταται επίσης ως εξαιρετική ζωοτροφή, με πολλαπλά οφέλη για τα εκτρεφόμενα ζώα, όπως για παράδειγμα για προστασία από την εμφάνιση του λιπώδους ιστού στο ήπαρ των γαλακτοπαραγωγικών αγελάδων καθώς και την ακετοναιμία (Chambers et al. 2017). Λόγω των υψηλών στρεμματικών αποδόσεων σε βιομάζα και έλαιο παρουσιάζει ενδιαφέρον για την καλλιέργεια του ως ενεργειακό φυτό, ενώ αναφέρεται στη διεθνή βιβλιογραφία ότι η συγκεκριμένη καλλιέργεια πληροί τις προδιαγραφές σε Ευρωπαϊκή Ένωση, Κίνα και Αμερική ως πρώτη ύλη για βιοντίζελ (Takase et al. 2014). Ενδιαφέρουσα είναι η πρόταση για χρήση του *Silybum marianum* ως μέσο αποφόρτισης των ρυπασμένων εδαφών και πιθανολογείται η ένταξη του στην εφαρμογή τεχνολογιών απορρύπανσης (Khan et al. 2009).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Εγκατάσταση Πειράματος

2.1.1. Τοποθεσία και έδαφος

Το καλλιεργητικό μέρος του πειράματος έλαβε χώρα στην περιοχή του Βελεστίνου, με συντεταγμένες 39°2' Βόρειο Γεωγραφικό πλάτος και 22°45' Ανατολικό Γεωγραφικό μήκος, στο ύψος της Εθνικής οδού Αθηνών – Θεσσαλονίκης (Αγρόκτημα του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας). Βρίσκεται σε υψόμετρο 70 cm από την θάλασσα και το έδαφος της χαρακτηρίζεται κατά βάση αργιλοπηλοαμμώδες (άμμος 38%, ιλύς 36% και άργιλος 26%), με αλκαλικό pH 7,4 και χαμηλή ως μέτρια περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, γεγονός που την καθιστά έκταση με ικανοποιητική γονιμότητα.

2.1.2. Προετοιμασία εδάφους και πειραματικό σχέδιο εγκατάστασης

Πραγματοποιήθηκε άροση της καλλιεργούμενης έκτασης σε βάθος 25-30 cm. Ακολουθήθηκε το σχέδιο των υποδιαιρεμένων τεμαχίων (Διάγραμμα 1) με 2 κύρια τεμάχια (Παράγοντας 1: πυκνότητα καλλιέργειας με 2 επεμβάσεις (Πυκνότητα 1 (**Π1**): 28 φυτά/m² και Πυκνότητα 2 (**Π2**): 40 φυτά/m²) και 2 υποτεμάχια (Παράγοντας 2: ζιζάνια με 2 επεμβάσεις (1. Μάρτυρας χωρίς ζιζάνια και 2. Ζιζάνια). Στην επέμβαση 1 του παράγοντα 2 πραγματοποιήθηκαν σκαλίσματα για την καταπολέμηση των ζιζανίων, ενώ στην επέμβαση 2 δεν πραγματοποιήθηκε καταπολέμηση των ζιζανίων. Για το παρόν πείραμα χρησιμοποιήθηκαν 2 λωρίδες, με μήκος 25 m και πλάτος 2 m (Εικόνα 4). Ακολούθησε χωρισμός της λωρίδας σε τέσσερα (4) κύρια τεμάχια, διαστάσεων 5 m μήκος και 2 m πλάτος. Το πλάτος των διαδρόμων μεταξύ των δύο λωρίδων ήταν 1,25 m. Μετά τη μέτρηση των αποστάσεων, έγινε εγκατάσταση πασσάλων και σχοινιών όπως φαίνεται στην Εικόνα 4, με σκοπό τον σαφή προσδιορισμό των αγροτεμαχίων. Το έδαφος στο εκάστοτε τεμάχιο αναμοχλεύθηκε με σκαλιστήρι και δημιουργήθηκαν τέσσερις (4) γραμμές σποράς με απόσταση 50 cm μεταξύ τους για τα πρώτα τέσσερα τεμάχια, ενώ για τα άλλα τέσσερα τεμάχια δημιουργήθηκαν πέντε (5) γραμμές σποράς με απόσταση 35 cm μεταξύ τους. Έτσι, η πυκνότητα σποράς στα πρώτα τέσσερα τεμάχια θα είναι 28 φυτά m⁻², ενώ τα υπόλοιπα τέσσερα τεμάχια θα έχουν πυκνότητα σποράς 40 φυτά m⁻². Ακολούθησε διχοτόμηση των εκάστοτε τεμαχίων, με σκοπό τη μηχανική καταπολέμηση των ζιζανίων που αναμένονταν

να αναπτυχθούν στο πρώτο μισό τεμάχιο, ενώ στο άλλο δεύτερο μισό τα ζιζάνια αφέθηκαν να αναπτυχθούν κανονικά.

$\Pi_1 + \text{Ζιζάνια}$	$\Pi_2 + \text{Μάρτυρας}$	4 ^η Επανάληψη
$\Pi_1 + \text{Μάρτυρας}$	$\Pi_2 + \text{Ζιζάνια}$	
$\Pi_1 + \text{Ζιζάνια}$	$\Pi_2 + \text{Μάρτυρας}$	3 ^η Επανάληψη
$\Pi_1 + \text{Μάρτυρας}$	$\Pi_2 + \text{Ζιζάνια}$	
$\Pi_2 + \text{Μάρτυρας}$	$\Pi_1 + \text{Ζιζάνια}$	2 ^η Επανάληψη
$\Pi_2 + \text{Ζιζάνια}$	$\Pi_1 + \text{Μάρτυρας}$	
$\Pi_2 + \text{Μάρτυρας}$	$\Pi_1 + \text{Ζιζάνια}$	1 ^η Επανάληψη
$\Pi_2 + \text{Ζιζάνια}$	$\Pi_1 + \text{Μάρτυρας}$	

Διάγραμμα 1. Πειραματικό σχέδιο των υποδιαιρεμένων τεμαχίων με 2 παράγοντες και 4 επαναλήψεις. *Παράγοντας 1:* Πυκνότητα καλλιέργειας με 2 επεμβάσεις: α) Πυκνότητα 1 (28 φυτά/m²) (Π_1), β) Πυκνότητα 2 (40 φυτά/m²) (Π_2), *Παράγοντας 2:* Ζιζάνια με 2 επεμβάσεις: α) Μάρτυρας (χωρίς ζιζάνια), β) Ζιζάνια.



Εικόνα 4. Πειραματικός αγρός, εντός του λευκού πλαισίου (πχ. μία από τις δύο λωρίδες μήκους 25 m και πλάτους 2m), καθορίστηκαν τα τεμάχια και οι διάδρομοι στη μία από τις λωρίδες εδάφους.

2.1.3. Σπορά

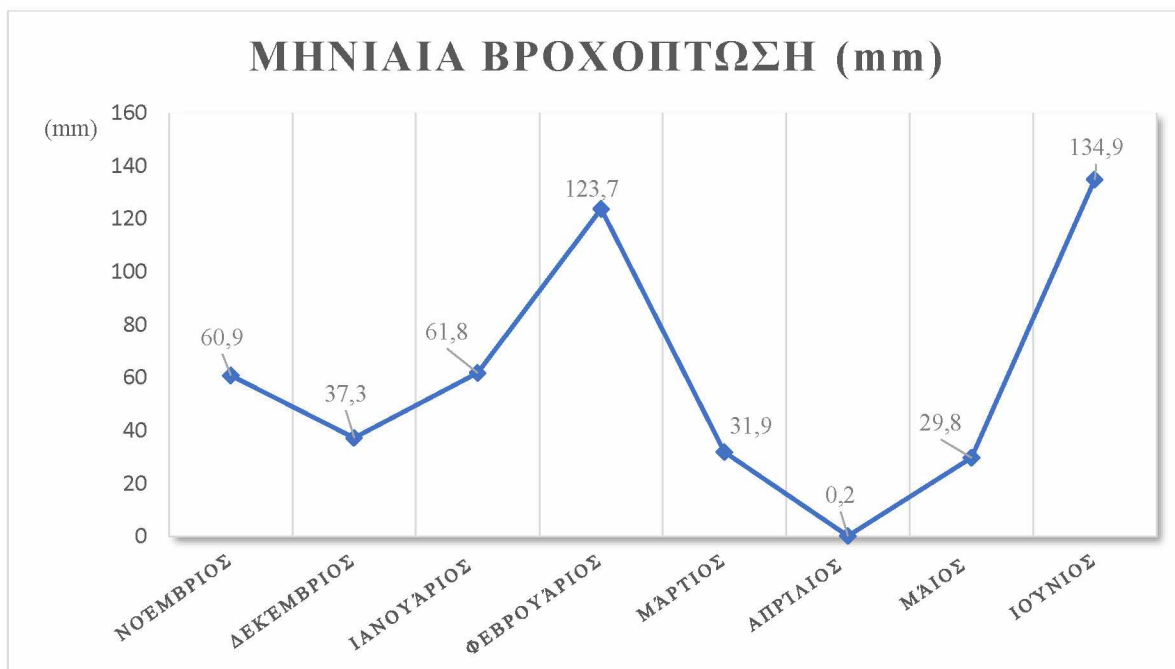
Η σπορά πραγματοποιήθηκε στις 31 Οκτωβρίου 2017 με σπόρους γαϊδουράγκαθου που προέρχονταν από την περιοχή του Δομοκού (Πληθυσμός ‘Άγιος Γεώργιος’). Το βάθος σποράς ήταν 3-5cm. Το φύτευμα ολοκληρώθηκε 2 εβδομάδες μετά τη σπορά.

2.1.4. Μετεωρολογικά Δεδομένα

Στα διαγράμματα 2 και 3 παρουσιάζονται η μέση μηνιαία θερμοκρασία και το ύψος της βροχόπτωσης κατά το χρονικό διάστημα Νοέμβριος 2017 έως Ιούνιος 2018 όπως καταγράφηκαν από τον μετεωρολογικό σταθμός του αγροκτήματος. Η μεγαλύτερη μέση μηνιαία θερμοκρασία (24,25 °C) και το μεγαλύτερο ύψος βροχόπτωσης (134,9 mm) καταγράφηκαν κατά τον μήνα Ιούνιο.



Διάγραμμα 2. Μέση μηνιαία τιμή της θερμοκρασίας στην περιοχή του Βελεστίνου για την περίοδο Νοεμβρίου 2017 ως Ιουνίου 2018.



Διάγραμμα 3. Μηνιαία βροχόπτωση στην περιοχή του Βελεστίνου για την περίοδο Νοεμβρίου 2017 ως Ιουνίου 2018.

2.1.5. Καταπολέμηση των ζιζανίων

Στις 3 Φεβρουαρίου πραγματοποιήθηκε σκάλισμα για αφαίρεση ζιζανίων στα τεμάχια της επέμβασης του μάρτυρα, ενώ στα υπόλοιπα τεμάχια τα γαιδουράγκαθα αναπτύσσονταν παρουσία ζιζανίων. Σε επιφάνεια 60 cm επί x 60 cm καταγράφηκε ο πληθυσμός των υπαρχόντων χειμερινών ετήσιων ζιζανίων τα οποία καταγράφονται στον Πίνακα 2. Η ζιζανιοκτονία έγινε με σκαλιστήρια. Η καταπολέμηση των ζιζανίων πραγματοποιήθηκε και στους διαδρόμους μεταξύ των τεμαχίων. Στις 7 Φεβρουαρίου πραγματοποιήθηκε 2^ο σκάλισμα στα ίδια τεμάχια και στους διαδρόμους. Με την πάροδο του χρόνου, η πυκνότητα των καλλιεργούμενων γαιδουράγκαθων δεν επέτρεπε το σκάλισμα των ελάχιστων μεν, υπαρχόντων δε ζιζανίων στα τεμάχια του μάρτυρα.

Πίνακας 2. Είδη ζιζανίων τα οποία καταγράφηκαν στον πειραματικό αγρό στο Βελεστίνο.

Κοινή ονομασία	Λατινική ονομασία
Άγριο σινάπι	<i>Sinapis arvensis</i>
Αναγαλλίδα	<i>Anagallis arvensis</i>
Ανθεμίδα	<i>Anthemis arvensis</i>
Βερόνικα	<i>Veronica persica</i>
Μυρώνι	<i>Scandix pecten-veneris</i>
Παπαρούνα	<i>Papaver rhoeas</i>
Στελλάρια	<i>Stellaria media</i>

2.1.6. Καταγραφές ανάπτυξης

Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν αφορούσαν τη διάμετρο ροζέτας, τη σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης, το ύψος των φυτών, τον αριθμό των ανθοκεφαλών ανά φυτό, το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος, τον αριθμό των ζιζανίων ανά τεμάχιο, το νωπό και ξηρό βάρος των ζιζανίων. Μετά τη συγκομιδή, η οποία πραγματοποιήθηκε στις 16 Μαΐου 2018, έγινε καταγραφή της απόδοσης σε σπόρο και του βάρους χιλίων (1000) σπόρων. Μετά την εργαστηριακή ανάλυση προσδιορισμού της σιλυμαρίνης έγινε καταγραφή της

απόδοσης της καλλιέργειας σε σιλυμαρίνη και έλαιο και της περιεκτικότητας επί τοις εκατό της σιλυμαρίνης και του ελαίου στο σπόρο.

2.1.6.1. Διάμετρος ροζέτας

Στις 8 Φεβρουαρίου 2018 πραγματοποιήθηκε η πρώτη μέτρηση της διαμέτρου ροζέτας τριών (3) τυχαίων δειγμάτων από κάθε τεμάχιο και στις 8 Μαρτίου 2018 πραγματοποιήθηκε η δεύτερη μέτρηση.

2.1.6.2. Σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης

Στις 8 Φεβρουαρίου 2018 πραγματοποιήθηκε η πρώτη μέτρηση της σχετικής συγκέντρωσης χλωροφύλλης πέντε (5) τυχαίων δειγμάτων με χρήση φορητού χλωροφυλλόμετρου SPAD-502 chlorophyll meter (Konica Minolta Optics Inc.), που χρησιμοποιεί την απορρόφηση για να υπολογίσει τη σχετική συγκέντρωση της χλωροφύλλης (τιμές SPAD) στους ιστούς των φύλλων. Στις 20 Απριλίου και 2 Μαΐου 2018 έγινε η δεύτερη και τρίτη μέτρηση, αντίστοιχα.

2.1.6.3. Ύψος φυτών

Στις 4 Απριλίου 2018 πραγματοποιήθηκε η πρώτη μέτρηση του ύψους των φυτών για κάθε πέντε (5) τυχαία δείγματα από κάθε τεμάχιο. Στις 18 Απριλίου και 2 Μαΐου 2018 πραγματοποιήθηκε η δεύτερη και τρίτη μέτρηση.

2.1.6.4. Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος

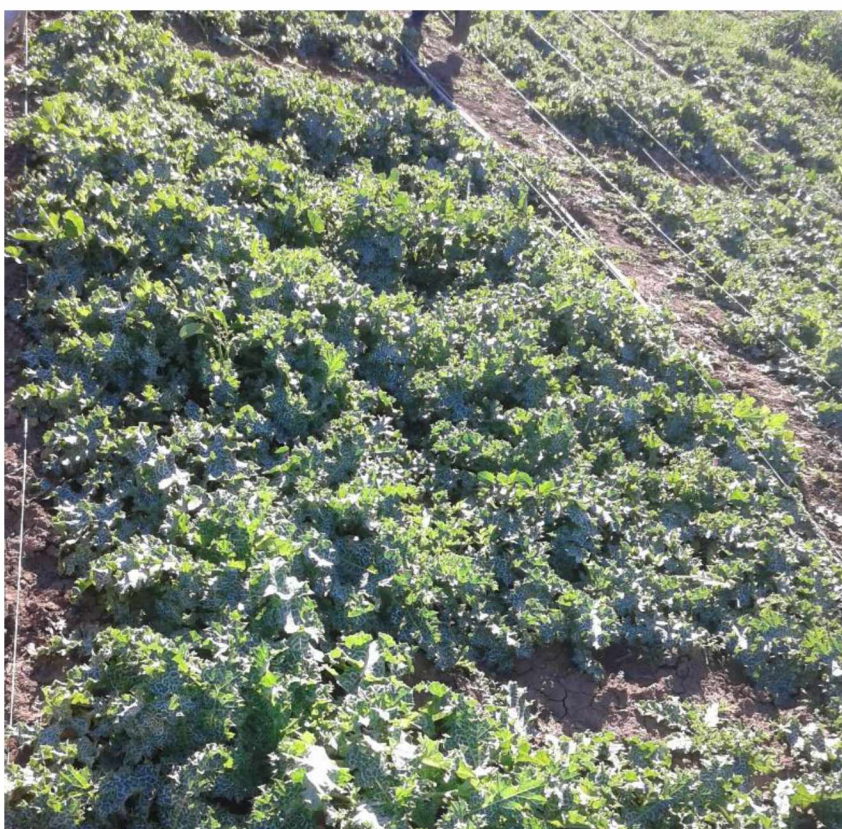
Στις 8 Μαρτίου 2018 (Εικόνα 5), πραγματοποιήθηκε η πρώτη μέτρηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος τριών (3) τυχαίων δειγμάτων από κάθε τεμάχιο με τη χρήση ζυγαριάς ακριβείας, ενώ στις 4 Απριλίου, 18 Απριλίου και 2 Μαΐου 2018 έγινε η δεύτερη, η τρίτη και η τέταρτη καταγραφή. Η μέτρηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος των τριών (3) τυχαίων δειγμάτων κάθε τεμαχίου πραγματοποιήθηκε αφού τοποθετήθηκαν σε ειδικό φούρνο για αποξήρανση στους 60°C για πέντε μέρες.

2.1.6.5. Αριθμός ζιζανίων

Στις 18 Μαρτίου 2018 πραγματοποιήθηκε καταμέτρηση του αριθμού ζιζανίων στο κάθε τεμάχιο, σε επιφάνεια 60 x 60 cm.

2.1.6.6. Νωπό και ξηρό βάρος ζιζανίων

Στις 18 Μαρτίου 2018 πραγματοποιήθηκε συλλογή των διαφόρων ειδών ζιζανίων σε επιφάνεια 60 x 60 cm και μέτρηση του νωπού βάρους τους, χρήσει ζυγού ακριβείας. Την ίδια ημέρα, αφού τα ζιζάνια αποξηράθηκαν σε ειδικό φούρνο στους 60 °C για τρεις μέρες, έγινε η καταγραφή του ξηρού βάρους τους.



Εικόνα 5. Καλλιέργεια γαϊδουράγκαθου στο στάδιο της ροζέτας στις 8 Μαρτίου 2018.

2.1.7. Συγκομιδή

Στις 16 Μαΐου 2018 συγκομίστηκαν πενήντα (50) ώριμες κεφαλές από κάθε τεμάχιο, οι οποίες φυλάχθηκαν σε σκιερό και δροσερό μέρος για δυο (2) εβδομάδες ώστε να επέλθει η φυσική ξήρανσή τους. Μετά το πέρας των δυο (2) εβδομάδων, οι ξηρές πλέον κεφαλές ανοίχθηκαν και οι σπόροι που περιέχονταν σε αυτές αφαιρέθηκαν, συλλέχθηκαν ανά τεμάχιο και καθαρίστηκαν από τυχόν μικροΐνες, έντομα, αγκάθια ή άλλα υπολείμματα.

Παράλληλα, πραγματοποιήθηκε διαλογή για την απομάκρυνση ανώριμων ή σπασμένων σπόρων. Εν συνεχεία, οι καθαρισμένοι σπόροι αυτοί συσκευάστηκαν σε μικρές διαφανείς επανασφραγιζόμενες πλαστικές σακούλες, με το όνομα του εκάστοτε τεμαχίου από το οποίο συγκομίστηκαν (στο σύνολο δεκαέξι σακούλες από τα δεκαέξι τεμάχια) και τοποθετήθηκαν στη συντήρηση ως ότου χρησιμοποιηθούν για ανάλυση στο εργαστηριακό μέρος του πειράματος.

2.1.7.1. Αριθμός ανθοκεφαλών-Ταξιανθίες

Στις 16 Μαΐου 2018 πραγματοποιήθηκε η μέτρηση του αριθμού των κεφαλών ανά φυτό γαϊδουράγκαθου (Εικ.6). Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε σε 5 φυτά ανά υποτεμάχιο.

2.1.7.2. Βάρος 1000 σπόρων

Αρχικά πραγματοποιήθηκε μέτρηση βάρους 100 σπόρων (οι οποίοι τοποθετήθηκαν πρώτα σε ειδικό φούρνο στους 60°C για 30 λεπτά) με χρήση ζυγού ακριβείας και τρεις επαναλήψεις ανά τεμάχιο. Έπειτα έγινε αναγωγή σε βάρος 1000 σπόρων.

2.1.7.3. Απόδοση σε σπόρο

Για τον υπολογισμό της απόδοσης σε σπόρο χρησιμοποιήθηκε η εξίσωση:

$$\text{Απόδοση} = \text{Ανθοκεφαλές ανα φυτό} \times \text{Πυκνότητα Καλλιέργειας}$$



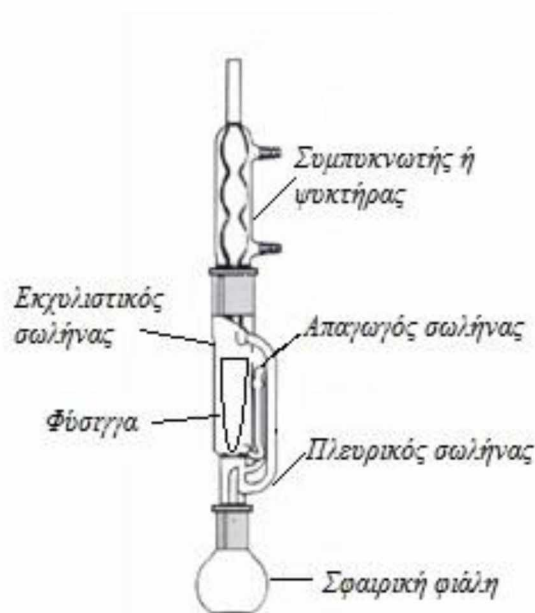
Εικόνα 6. Καλλιέργεια γαϊδουράγκαθου σε στάδιο ωρίμανσης του σπόρου (πριν το τίναγμα) πριν την συγκομιδή στις 16 Μαΐου 2018.

2.2. Εργαστηριακή ανάλυση προσδιορισμού ελαίου και σιλυμαρίνης

2.2.1. Εκχύλιση Soxhlet

2.2.1.1. Εκχύλιση Soxhlet με χρήση εξανίου για συλλογή λιπαρών συστατικών

Το εργαστηριακό μέρος του πειράματος περιλάμβανε εκχύλιση Soxhlet, συμπύκνωση μέχρι ξηρού των εκχυλισμάτων και προσδιορισμό της σιλυμαρίνης με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC.



Εικόνα 7. (Αριστερά) Εκχυλιστική συσκευή Soxhlet. (Δεξιά) Απεικόνιση εκχυλιστικής συσκευής Soxhlet. Οι αλεσμένοι σπόροι τοποθετούνται στη φύσιγγα κυτταρίνης. Ο διαλύτης που βρίσκεται στη σφαιρική φιάλη θερμαίνεται και οι ατμοί, αφού διέλθουν από τον πλευρικό σωλήνα, συμπυκνώνονται μέσω του ψυκτήρα και ρέουν επί της φύσιγγας. Όταν ο γυάλινος εκχυλιστικός σωλήνας πληρωθεί με τον διαλύτη ως το ύψος του απαγωγού σωλήνα, γίνεται αυτόματος σιφωνισμός και ο διαλύτης επιστρέφει στη φιάλη. Ο κύκλος επαναλαμβάνεται.

Για την εκχύλιση Soxhlet έγινε ακριβής ζύγιση πέντε γραμμαρίων (5,0 g) αλεσμένων σπόρων και τοποθέτησή τους σε φύσιγγα κυτταρίνης. Ως εκχυλιστικό μέσο χρησιμοποιήθηκε εξάνιο (200 mL) για τη συλλογή των λιπαρών συστατικών (έλαιο). Το εξάνιο έχει την ιδιότητα να παρασύρει τα λιπαρά συστατικά των αλεσμένων. Όταν η στάθμη του εξανίου φτάνει σε ορισμένο σημείο του ενδιάμεσου εκχυλιστικού σωλήνα (μέχρι το ύψος του απαγωγού σωλήνα) γίνεται αυτόματος σιφωνισμός, οπότε το εξάνιο επιστρέφει

στη σφαιρική φιάλη και ο ίδιος κύκλος επαναλαμβάνεται αδιάπαυστα για τέσσερις (4) ώρες (διάρκεια κύκλου περίπου 12 λεπτά). Μετά το πέρας των τεσσάρων ωρών, ο θερμοαντήρας σβήνει, το σύστημα αποσυνδέεται και η σφαιρική φιάλη με το εξανικό εκχύλισμα οδηγείται σε περιστροφικό εξάτμιστήρα για συμπύκνωση μέχρι ξηρού.

2.2.1.2. Εκχύλιση Soxhlet με χρήση μεθανόλης για συλλογή σιλυμαρίνης

Το επόμενο βήμα είναι η εκχύλιση των σπόρων με μεθανόλη (200 mL) για παραλαβή της σιλυμαρίνης. Εφόσον συνδεθεί το σύστημα και ανοιχθεί ο θερμοαντήρας, ξεκινούν νέοι κύκλοι εξάτμισης και υγροποίησης της μεθανόλης, οι οποίοι επαναλαμβάνονται για τέσσερις ώρες (διάρκεια κύκλου 35 λεπτά). Η μεθανόλη παρασύρει τα συστατικά της σιλυμαρίνης των σπόρων στο διάλυμα της. Με την ολοκλήρωση των κύκλων, το σύστημα αποσυνδέεται και η σφαιρική φιάλη με το μεθανολικό εκχύλισμα οδηγείται προς συμπύκνωση μέχρι ξηρού.

2.2.2. Εξάτμιση μεθανόλης και εξανίου

Μετά τις εκχυλίσεις, γίνεται απομάκρυνση της μεθανόλης με χρήση του περιστροφικού εξάτμιστήρα που ως αποτέλεσμα έχει την απομόνωση των συστατικών της σιλυμαρίνης. Η διαδικασία αυτή διαρκεί δυο (2) ώρες. Η μεθανόλη συλλέγεται και η ποσότητα της σιλυμαρίνης ζυγίζεται και καταγράφεται. Τα συστατικά της σιλυμαρίνης, καθώς στερεά, επαναδιαλύονται με 25mL υψηλής καθαρότητας μεθανόλης και ακολουθεί ανάδευση για ελάχιστα δευτερόλεπτα σε συσκευή υπερήχων. Τέλος το μεθανολικό διάλυμα τοποθετείται σε φιαλίδια τα οποία παραμένουν στο ψυγείο μέχρι την ανάλυσή τους.



Εικόνα 8. Μεθανολικά εκχυλίσματα σιλυμαρίνης μετά την εκχύλιση Soxhlet.

Οι σφαιρικές φιάλες με τα εξανικά εκχυλίσματα οδηγούνται για συμπύκνωση μέχρι ξηρού. Εκεί επιτυγχάνεται διαχωρισμός του εξανίου από τα λιπαρά συστατικά και η ολική διαδικασία διαρκεί μία (1) ώρα. Με το τέλος της απομάκρυνσης του εξανίου, η ποσότητα των λιπαρών συστατικών (έλαιο) προσδιορίζεται με ζύγιση.

2.2.3. Καταγραφές σιλυμαρίνης και ελαίου (λιπιδίων)

2.2.3.1. Απόδοση σε σιλυμαρίνη

Μετά την εργαστηριακή ανάλυση του Ιουλίου 2018, καταγράφηκε η ποσότητα της σιλυμαρίνης ανά 5g σπόρου για κάθε τεμάχιο και εν συνεχεία έγινε αναγωγή σε κιλά σιλυμαρίνης ανά στρέμμα.

2.2.3.2. Απόδοση σε έλαιο

Μετά την εργαστηριακή ανάλυση του Ιουλίου 2018, καταγράφηκε η ποσότητα του ελαίου ανά 5g σπόρου για κάθε τεμάχιο και εν συνεχεία έγινε αναγωγή σε κιλά ελαίου ανά στρέμμα.

2.2.3.3. Επί τοις εκατό περιεκτικότητα σιλυμαρίνης

Μετά την εργαστηριακή ανάλυση του Ιουλίου 2018, υπολογίστηκε η επί τοις εκατό περιεκτικότητα σιλυμαρίνης ανά 5 g σπόρου.

2.2.3.4. Επί τοις εκατό περιεκτικότητα ελαίου

Μετά την εργαστηριακή ανάλυση του Ιουλίου 2018, υπολογίστηκε η επί τοις εκατό περιεκτικότητα ελαίου ανά 5 g σπόρου.

2.2.4. Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)

2.2.4.1. Παρασκευή διαλυμάτων

Για την προετοιμασία των μεθανολικών διαλυμάτων που θα χρησιμοποιηθούν στην υγρή χρωματογραφία HPLC, τα φιαλίδια που παρέμεναν στο ψυγείο οδηγούνται προς ανάδευση σε συσκευή υπερήχων και σε Vortex, προκειμένου να ομογενοποιηθούν η υγρή και στερεή φάση (που είχε καθιζάνει). Ύστερα παραλαμβάνονται 5 mL και αραιώνονται με μεθανόλη στα 25 mL, που είναι το προς έκχυση διάλυμα στη χρωματογραφική στήλη.

2.2.4.2. Χρωματογραφική ανάλυση

Η ανάλυση των μεθανολικών εκχυλισμάτων πραγματοποιήθηκε σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας Hewlett-Packard GmbH (HP 1100 Liquid Chromatograph). Η κινητή φάση που χρησιμοποιήθηκε για το διαχωρισμό των συστατικών της σιλυμαρίνης ήταν 30% MeOH και 70% H₂O περιεχόμενου 0,1% φορμικού οξέος, ενώ το πρόγραμμα καταγράφεται βαθμωτής έκλουσης παρουσιάζεται στον Πίνακα 3. Η ροή της κινητής φάσης ήταν 1 mL/min, με θερμοκρασία ρυθμισμένη στους 40°C. Η ανίχνευση έγινε σε μήκος κύματος $\lambda=288$ nm.

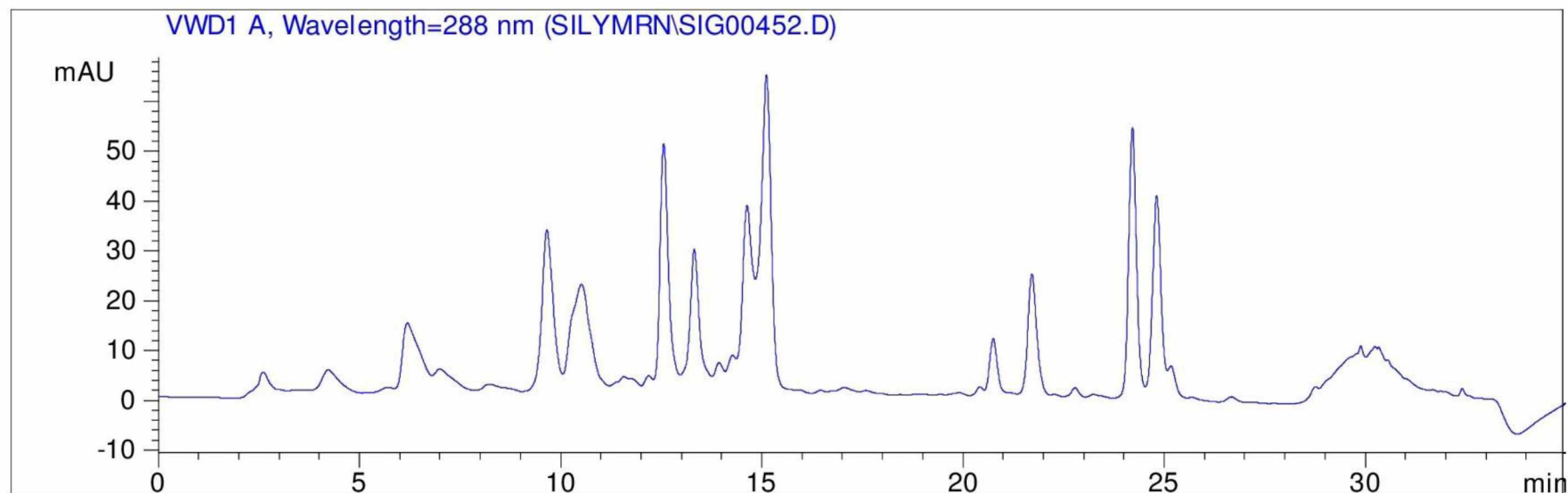
Πίνακας 3. Αναλογία κινητής φάσης στον χρόνο.

<i>Χρόνος (min)</i>	<i>%MeOH</i>	<i>%H₂O (0,1% formic acid)</i>
0,00	30	70
4,00	30	70
8,00	40	60
10,00	40	60
21,00	50	50
25,00	50	50
27,00	80	20
30,00	80	20
32,00	30	70
35,00	30	70

Πραγματοποιείται ποιοτική ανάλυση των συστατικών της σιλυμαρίνης βάσει του χρόνου κατακράτησης τους, καθώς και ποσοτική ανάλυσή της με χρήση εξωτερικών προτύπων

σίλυμαρίνης. Χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα διαλύματα σίλυμαρίνης των 50 µg/mL, 100 µg/mL, 150 µg/mL, 200 µg/mL και 300 µg/mL.

Τα επιμέρους συστατικά της σίλυμαρίνης που καταγράφονται είναι η ταξιφολίνη(TXF), σίλυκριστίνη (SCS), σίλυδιανίνη και ισοσίλυκριστίνη (SDN&ISCS), σίλυδιανίνη (SDN), ισοσίλυκριστίνη (ISCS), σίλυμπίνη Α (SBA), σίλυμπίνη Β (SBB), ισοσίλυμπίνη Α (ISBA), ισοσίλυμπίνη Β (ISBB).



Εικόνα 9. Ενδεικτικό χρωματογράφημα μεθανολικού εκχυλίσματος σιλυμαρίνης. Οι κορυφές που αντιπροσωπεύουν τα συστατικά της σιλυμαρίνης είναι οι παρακάτω: ταξιφολίνη (9 min), σιλυκριστίνη (12.5min), σιλυδιανίνη (14.5 min), ισοσιλυκριστίνη (15 min), σιλυμπίνη A (20.8 min), σιλυμπίνη B (21.8 min), ισοσιλυμπίνη A (24 min) ισοσιλυμπίνη B (25 min). Οι τιμές των χρόνων κατακράτησης είναι ενδεικτικές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Διάμετρος ροζέτας

1^η Μέτρηση

Κατά την 1^η μέτρηση, η διάμετρος της ροζέτας κυμαίνονταν από 15,97 έως 16,88 cm (Πίνακας 4), όμως δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς, καθώς και μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των ζιζανίων.

Πίνακας 4. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στη διάμετρο της ροζέτας του γαϊδουράγκαθου (cm) σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 1^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Διάμετρος ροζέτας (cm)-1 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	16,88	16,50
Ζιζάνια	16,43	15,97
F _{ζιζάνια}	0,161 ^{ns}	
F _{πυκνότητα}	0,120 ^{ns}	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0.00133 ^{ns}	

2^η Μέτρηση

Κατά την 2^η μέτρηση η διάμετρος της ροζέτας κυμαίνονταν από 34,97 έως 45,84 cm (Πίνακας 5). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Συγκεκριμένα η αραιή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της διαμέτρου της ροζέτας κατά 16,38 και 14,09% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά.

(πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Επίσης, ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της διαμέτρου της ροζέτας κατά 11,22 και 8,78% στην πυκνότητα 1 και πυκνότητα 2, αντίστοιχα. Καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 5. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στη διάμετρο της ροζέτας του γαιδουράγκαθου σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 2^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ τα **, *** δείχνουν σημαντικότητα σε $P<0.01$ και $P<0.001$, αντίστοιχα.

Διάμετρος ροζέτας (cm)-2 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	45,84	38,33
Ζιζάνια	40,70	34,97
F _{ζιζάνια}	17,345**	
F _{πυκνότητα}	42,001***	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,757 ^{ns}	

3.2. Ύψος φυτού

1^η Μέτρηση

Κατά την 1^η μέτρηση, το ύψος των φυτών κυμαίνονταν από 60,90 έως 74,50 cm (Πίνακας 6). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Συγκεκριμένα, η αραιή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ύψους φυτού κατά 14,18 και 18,26% στα φυτά μάρτυρες και φυτά παρουσία ζιζανίων, αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²).

²). Δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 6. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο ύψος των φυτών σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 1^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το *** δείχνει σημαντικότητα σε $P < 0.001$.

Ύψος φυτού (cm)-1 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	73,68	63,23
Ζιζάνια	74,50	60,90
F_{ζιζάνια}	0,105 ^{ns}	
F_{πυκνότητα}	26,498***	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,456 ^{ns}	

2^η Μέτρηση

Κατά την 2^η μέτρηση, το ύψος των φυτών κυμαίνονταν από 117,57 έως 147,10 cm (Πίνακας 7). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Συγκεκριμένα η αραιή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ύψους κατά 15,41 και 13,84% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή φύτευση (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Επίσης, ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ύψους κατά 7,24 και 5,52% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα. Καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 7. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο ύψος των φυτών σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 2^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ τα **, *** δείχνουν σημαντικότητα σε $P<0.01$ και $P<0.001$, αντίστοιχα.

Ύψος φυτού (cm)-2 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	147,10	124,43
Ζιζάνια	136,46	117,57
F_{ζιζάνια}	13,172**	
F_{πυκνότητα}	74,181***	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,613 ^{ns}	

3^η Μέτρηση

Κατά την 3^η μέτρηση, το ύψος των φυτών κυμαίνονταν από 130,63 έως 175,57 cm (Πίνακας 8). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Συγκεκριμένα η αραιή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ύψους κατά 19,50 και 18,61% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Επίσης, ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ύψους κατά 8,58 και 7,57% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα. Καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 8. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο ύψος των φυτών σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 3^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ τα *, *** δείχνουν σημαντικότητα σε $P < 0.05$ και $P < 0.001$, αντίστοιχα.

Ύψος φυτού (cm)-3 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	175,57	141,33
Ζιζάνια	160,50	130,63
F _{ζιζάνια}	6,248*	
F _{πυκνότητα}	38,666***	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,179 ^{ns}	

3.3. Σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης

1^η Μέτρηση

Κατά την 1^η μέτρηση, η σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης (τιμές SPAD) κυμαίνονταν από 37,94 έως 42,26 τιμές SPAD (Πίνακας 9), όμως δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς, καθώς και μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των ζιζανίων.

2^η Μέτρηση

Κατά την 2^η μέτρηση, η σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης (τιμές SPAD) κυμαίνονταν από 37,67 έως 40,23 (Πίνακας 10). Η αραιή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της σχετικής συγκέντρωσης χλωροφύλλης κατά 4,97 και 1,05% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Επίσης, ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της σχετικής συγκέντρωσης χλωροφύλλης κατά 5,39 και 1,48% στην πυκνότητα 1 και

2 αντίστοιχα. Καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

3^η Μέτρηση

Κατά την 3^η μέτρηση, η σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης (τιμές SPAD) κυμαίνονταν από 34,93 έως 38,93 (Πίνακας 11). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Συγκεκριμένα η αραιή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της σχετικής συγκέντρωσης χλωροφύλλης κατά 9,33 και 6,93% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή φύτευση (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 9. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 1^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το * δείχνει σημαντικότητα σε $P < 0.05$.

Σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης (τιμές SPAD)-1 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	37,94	42,26
Ζιζάνια	40,07	38,17
F _{ζιζάνια}	1,005 ^{ns}	
F _{πυκνότητα}	1,511 ^{ns}	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	10,026*	

Πίνακας 10. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 2^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το * δείχνει σημαντικότητα σε $P<0.05$.

Σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης (τιμές SPAD)-2 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	40,23	38,23
Ζιζάνια	38,07	37,67
F _{ζιζάνια}	9,173*	
F _{πυκνότητα}	7,072*	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	3,143 ^{ns}	

Πίνακας 11. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 3^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το *** δείχνει σημαντικότητα σε $P<0.001$.

Σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης (τιμές SPAD)-3 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	38,93	35,30
Ζιζάνια	37,53	34,93
F _{ζιζάνια}	2,445 ^{ns}	
F _{πυκνότητα}	30,434***	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,836 ^{ns}	

3.4. Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος

1^η Μέτρηση

Κατά την 1^η μέτρηση, το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος κυμαίνονταν από 261,52 έως 346,99 kg/στρέμμα (Πίνακας 12). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 2. Συγκεκριμένα η πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος κατά 26,11 και 28,94% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²). Δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 12. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 1^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το ** δείχνει σημαντικότητα σε $P < 0.01$.

Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος (kg/στρέμμα)-1 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	275,15	346,99
Ζιζάνια	261,52	337,20
F _{ζιζάνια}	0,375 ^{ns}	
F _{πυκνότητα}	14,868**	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,0101 ^{ns}	

2^η Μέτρηση

Κατά την 2^η μέτρηση, το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος κυμαίνονταν από 825,07 έως 1108,53 kg/στρέμμα (Πίνακας 13). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 2. Συγκεκριμένα η πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος κατά 17,58 και 21,74% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²). Καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ξηρού βάρους κατά 12,48 και 9,39% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 13. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 2^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ τα *, ** δείχνουν σημαντικότητα σε $P < 0.05$ και $P < 0.01$, αντίστοιχα.

Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος (kg/στρέμμα)-2 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	942,76	1108,53
Ζιζάνια	825,07	1004,40
F _{ζιζάνια}	7,132*	
F _{πυκνότητα}	17,262**	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,0267 ^{ns}	

3^η Μέτρηση

Κατά την 3^η μέτρηση, το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος κυμαίνονταν από 1380,96 έως 1786,80 kg/στρέμμα (Πίνακας 14). Η πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) είχε ως

αποτέλεσμα την αύξηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος κατά 10,60 και 14,87% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²). Καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του ξηρού βάρους κατά 14,52 και 11,22% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 14. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 3^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το ** δείχνει σημαντικότητα σε $P < 0.01$.

Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος (kg/στρέμμα)-3 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	1615,51	1786,80
Ζιζάνια	1380,96	1586,27
F_{ζιζάνια}	14,946**	
F_{πυκνότητα}	11,198**	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,0913 ^{ns}	

4^η Μέτρηση

Κατά την 4^η μέτρηση, το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος κυμαίνονταν από 1608,69 έως 2118,67 kg/στρέμμα (Πίνακας 15). Η πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ξηρού βάρους του υπέργειου τμήματος κατά 9,27 και 14,75% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²). Καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα

την μείωση του ξηρού βάρους κατά 17,03 και 12,87% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 15. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²) κατά την 4^η μέτρηση. Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ τα **,*** δείχνουν σημαντικότητα σε $P<0.01$ και $P<0.001$, αντίστοιχα.

Ξηρό βάρος υπέργειου τμήματος (kg/στρέμμα)-4 ^η Μέτρηση		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	1938,91	2118,67
Ζιζάνια	1608,69	1846,00
F_{ζιζάνια}	42,546***	
F_{πυκνότητα}	20,362**	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,388 ^{ns}	

3.5. Ταξιανθίες-Αριθμός κεφαλών

Σε αυτήν την μέτρηση, ο αριθμός των κεφαλών ανά φυτό κυμαίνονταν από 4,07 έως 5,67 (Πίνακας 16). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Η αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των κεφαλών ανά φυτό κατά 23,53 και 22,78% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 16. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στον αριθμό κεφαλών ανά φυτό σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το ** δείχνει σημαντικότητα σε $P < 0.01$.

Ταξιανθίες (αριθμός κεφαλών/φυτό)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	5,67	4,33
Ζιζάνια	5,27	4,07
F _{ζιζάνια}	0,929 ^{ns}	
F _{πυκνότητα}	13,412 ^{**}	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,0372 ^{ns}	

3.6. Βάρος 1000 σπόρων

Σε αυτήν την μέτρηση, το βάρος 1000 σπόρων κυμαίνονταν από 20,26 έως 22,06 g (Πίνακας 17), όμως δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς, καθώς και μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των ζιζανίων.

3.7. Απόδοση σε σπόρο

Σε αυτήν την μέτρηση, η απόδοση σε σπόρο κυμαίνονταν από 141,84 έως 190,07 kg/στρέμμα (Πίνακας 18). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Η αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης σε σπόρο κατά 18,69 και 12,74% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Επίσης, καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Ο ανταγωνισμός με τα ζιζάνια είχε ως αποτέλεσμα

την μείωση της απόδοσης σε σπόρο κατά 14,48 και 8,21% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 17. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στο βάρος 1000 σπόρων σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Βάρος 1000 σπόρων (g)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	22,06	20,86
Ζιζάνια	21,34	20,26
F _{ζιζάνια}	1,672 ^{ns}	
F _{πυκνότητα}	4,930 ^{ns}	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,0124 ^{ns}	

Πίνακας 18. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην απόδοση σε σπόρο σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ τα *, ** δείχνουν σημαντικότητα σε P<0.05 και P<0.01, αντίστοιχα.

Απόδοση σε σπόρο (kg/στρέμμα)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	190,07	154,54
Ζιζάνια	162,55	141,84
F _{ζιζάνια}	8,274*	
F _{πυκνότητα}	16,205**	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	1,119 ^{ns}	

3.8. Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης

Σε αυτήν την μέτρηση, η περιεκτικότητα της σιλυμαρίνης κυμαίνονταν από 2,05 έως 2,65 % (Πίνακας 19), όμως δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς, καθώς και μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των ζιζανίων.

Πίνακας 19. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην περιεκτικότητα σιλυμαρίνης στους σπόρους, σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Περιεκτικότητα σιλυμαρίνης (%)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	2,65	2,14
Ζιζάνια	2,43	2,05
F _{ζιζάνια}	0,506 ^{ns}	
F _{πυκνότητα}	4,348 ^{ns}	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,0875 ^{ns}	

3.9. Περιεκτικότητα ελαίου

Σε αυτήν την μέτρηση, η περιεκτικότητα του ελαίου κυμαίνονταν από 24,08 έως 25,59 % (Πίνακας 20), όμως δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς, καθώς και μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των ζιζανίων.

3.10. Απόδοση σε σιλυμαρίνη

Σε αυτήν την μέτρηση, η απόδοση σε σιλυμαρίνη κυμαίνονταν από 2,90 έως 5,06 kg/στρέμμα (Πίνακας 21). Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Συγκεκριμένα η αραιή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της απόδοσης σε σιλυμαρίνη κατά 34,43 και 26,72% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά

(πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Δεν καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Τέλος, δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 20. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην περιεκτικότητα ελαίου στους σπόρους, σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Περιεκτικότητα ελαίου (%)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	24,42	25,59
Ζιζάνια	24,08	24,76
F_{ζιζάνια}	0,935 ^{ns}	
F_{πυκνότητα}	2,374 ^{ns}	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,167 ^{ns}	

Πίνακας 21. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην απόδοση σε σιλυμαρίνη, σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το * δείχνει σημαντικότητα στο $P < 0.05$.

Απόδοση σε σιλυμαρίνη (kg/στρέμμα)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	5,06	3,32
Ζιζάνια	3,96	2,90
F_{ζιζάνια}	2,089 ^{ns}	
F_{πυκνότητα}	7,078*	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,424 ^{ns}	

3.11. Απόδοση σε έλαιο

Σε αυτήν την μέτρηση, η απόδοση σε έλαιο κυμαίνονταν από 35,05 έως 46,29 kg/στρέμμα (Πίνακας 22), όμως δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς, καθώς και μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των ζιζανίων.

Πίνακας 22. Επίδραση του ανταγωνισμού των ζιζανίων στην απόδοση σε έλαιο, σε δύο διαφορετικές πυκνότητες σποράς (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές.

Απόδοση σε έλαιο (kg/στρέμμα)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	46,29	39,33
Ζιζάνια	39,19	35,05
F_{ζιζάνια}	3,199 ^{ns}	
F_{πυκνότητα}	3,046 ^{ns}	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,197 ^{ns}	

3.12. Αριθμός ζιζανίων

Σε αυτήν την μέτρηση, ο αριθμός ζιζανίων κυμαίνονταν από 27,8 έως 88,7 φυτά/m² (Πίνακας 23). Όπως ήταν αναμενόμενο, καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Συγκεκριμένα, ο αριθμός των ζιζανίων στα τεμάχια με ζιζάνια ήταν αυξημένος κατά 68,75 και 65,22% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα, σε σχέση με τα τεμάχια μάρτυρες. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς, ενώ επίσης δεν παρατηρήθηκε αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων.

Πίνακας 23. Αριθμός ζιζανίων που καταγράφηκαν στις διάφορες επεμβάσεις (Παράγοντας 1: πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻², παράγοντας 2: Μάρτυρας και Ζιζάνια). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ το *** δείχνει σημαντικότητα σε $P < 0.001$.

Αριθμός ζιζανίων (φυτά/m ²)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	29,6	27,8
Ζιζάνια	85,2	88,9
F _{ζιζάνια}	58,368***	
F _{πυκνότητα}	0,0147 ^{ns}	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	0,132 ^{ns}	

3.13. Νωπό βάρος ζιζανίων

Σε αυτήν την μέτρηση, το νωπό βάρος των ζιζανίων κυμαίνονταν από 299,4 έως 1237 kg/στρέμμα (Πίνακας 24). Όπως ήταν αναμενόμενο, καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Συγκεκριμένα, το νωπό βάρος των ζιζανίων στα τεμάχια με ζιζάνια ήταν αυξημένος κατά 69,37 και 63,08% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα, σε σχέση με τα τεμάχια μάρτυρες.

Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Η αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του νωπού βάρους των ζιζανίων κατά 34,43 και 20,98% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²). Τέλος δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και της επέμβασης των ζιζανίων.

Πίνακας 24. Νωπό βάρος των ζιζανίων στις διάφορες επεμβάσεις (Παράγοντας 1: πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻², παράγοντας 2: Μάρτυρας και Ζιζάνια). Το ns δείχνει μη στατιστικά σημαντικές διαφορές, ενώ τα **,*** δείχνουν σημαντικότητα σε $P<0.01$ και $P<0.001$, αντίστοιχα.

Νωπό βάρος ζιζανίων (kg/στρέμμα)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	456,7	299,4
Ζιζάνια	1237,0	977,5
F_{ζιζάνια}	235,731***	
F_{πυκνότητα}	19,252**	
F_{ζιζάνια x πυκνότητα}	1,161 ^{ns}	

3.14. Ξηρό βάρος ζιζανίων

Σε αυτήν την μέτρηση, το ξηρό βάρος των ζιζανίων κυμαίνονταν από 50,2 έως 208,4 kg/στρέμμα (Πίνακας 25). Όπως ήταν αναμενόμενο, καταγράφηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα (χωρίς ζιζάνια) και της επέμβασης των ζιζανίων. Συγκεκριμένα, το ξηρό βάρος των ζιζανίων στα τεμάχια με ζιζάνια ήταν αυξημένος κατά 67,09 και 64,19% στην πυκνότητα 1 και 2 αντίστοιχα, σε σχέση με τα τεμάχια μάρτυρες.

Όσον αφορά την επίδραση της πυκνότητας σποράς, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο πυκνοτήτων σποράς με τις μεγαλύτερες τιμές να καταγράφονται στην πυκνότητα 1. Η αραιή σπορά (πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻²) είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση του ξηρού βάρους των ζιζανίων κατά 32,73 και 26,79% στα φυτά μάρτυρες και στα φυτά με ζιζάνια αντίστοιχα, σε σχέση με την πυκνή σπορά (πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻²).

Πίνακας 25. Ξηρό βάρος των ζιζανίων στις διάφορες επεμβάσεις (Παράγοντας 1: πυκνότητα 1: 28 φυτά m⁻² και πυκνότητα 2: 40 φυτά m⁻², παράγοντας 2: Μάρτυρας και Ζιζάνια). Τα *, **, *** δείχνουν σημαντικότητα σε $P<0.05$, $P<0.01$ και $P<0.001$, αντίστοιχα.

Ξηρό βάρος ζιζανίων (kg/στρέμμα)		
	Πυκνότητα 1	Πυκνότητα 2
Μάρτυρας	74,6	50,2
Ζιζάνια	208,4	152,5
F _{ζιζάνια}	304,871***	
F _{πυκνότητα}	35,227***	
F _{ζιζάνια x πυκνότητα}	5,394*	

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

4.1 Επίδραση της πυκνότητας στην απόδοση της καλλιέργειας γαϊδουράγκαθου

Η αραιή σπορά επηρέασε θετικά τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών από τα αρχικά ακόμα στάδια της καλλιέργειας. Συγκεκριμένα, η διάμετρος ροζέτας, το ύψος φυτού και η σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης εμφάνισαν υψηλότερες τιμές στα τεμάχια με χαμηλή πυκνότητα σποράς (πυκνότητα 1 ή 28 φυτά m⁻²) σε σχέση με τα τεμάχια με υψηλή πυκνότητα (πυκνότητα 2 ή 40 φυτά m⁻²) ($P < 0,001$). Αυτό εξηγείται εν μέρει εξαιτίας της καλύτερης διάχυσης και αξιοποίησης του φωτός από τα φυτά σε αραιή σπορά, με καταγεγραμμένη απορρόφηση φωτός ως και 14,9% σε αραιή σπορά καλαμποκιού (4 φυτά m⁻²), ενώ με απορρόφηση μόλις 4,2% σε πυκνή σπορά (10 φυτά m⁻²) σε πείραμα των Youngermann et al. 2018. Τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με τα αντίστοιχα των Belitz και Sams (2007), οι οποίοι κατέγραψαν μείωση της διαμέτρου ροζέτας με την αύξηση της πυκνότητας.

Όσον αφορά το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος, αυτό φαίνεται να επηρεάστηκε θετικά από την υψηλή πυκνότητα σποράς. Ειδικότερα, η υψηλότερη τιμή ξηρής βιομάζας καταγράφηκε στην πυκνότητα 2 (πυκνή σπορά ή 40 φυτά m⁻²). Ο Ghorbanpour (2017) υποστηρίζει την γενική αρχή πως όσο υψηλότερος είναι ο πληθυσμός των φυτών σε μία καθορισμένη επιφάνεια, τόσο χαμηλότερη είναι η ενιαία μάζα του κάθε φυτού. Ωστόσο η αρχή αυτή δεν συμβαδίζει με τα ευρήματα του παρόντος πειράματος και αυτό εξαιτίας των μορφολογικών και αγρονομικών χαρακτηριστικών του γαϊδουράγκαθου που επιτρέπουν την αύξηση του intra-specific ανταγωνισμού (ανταγωνισμός μεταξύ φυτών του ίδιου είδους) (Ghorbanpour 2017). Έτσι, χάρη στην προσαρμογή του σε γενικά μη ευνοϊκές συνθήκες και την ανάπτυξη χαρακτηριστικών που το κάνουν ιδιαίτερα ανταγωνιστικό, το φυτό ανταγωνίζεται τα άλλα φυτά του ίδιου είδους για την εδραίωση του (για εκμετάλλευση φωτός, νερού κ.α.). Επομένως αυτό θα μπορούσε να δικαιολογήσει την υψηλότερη βιομάζα σε μη ευνοϊκή συνθήκη (πυκνή σπορά). Επίσης, οι υψηλές τιμές για το ξηρό βάρος, πιθανόν να οφείλονται και στο γεγονός ότι εγκαταστάθηκε μεγαλύτερος αριθμός φυτών ανά m⁻² (40 φυτά m⁻² στην πυκνή σπορά). Δηλαδή, η τελική ανάπτυξη των φυτών δεν πτοήθηκε από την μη ευνοϊκή συνθήκη (πυκνή σπορά), οπότε αναπτύχθηκαν κανονικά και απέδωσαν υψηλότερη ξηρή βιομάζα. Τα αποτελέσματα των συγκεκριμένων μετρήσεων συμβαδίζουν με αυτά του πειράματος των Kristensen et al. 2008, όπου η αυξημένη πυκνότητα σποράς είχε θετικές επιδράσεις στην βιομάζα της καλλιέργειας σιταριού.

Ο αριθμός των ταξιανθιών ανά φυτό επηρεάστηκε από την πυκνότητα σποράς, με την αραιή σπορά να δίνει στα φυτά υψηλότερο αριθμό κεφαλών σε σχέση με τη πυκνή σπορά ($P<0,01$). Τα ευρήματα αυτά συμπίπτουν με τα συμπεράσματα του Ghorbanpour (2017), ότι η χαμηλή πυκνότητα επιτρέπει τη δημιουργία περισσότερων διακλαδώσεων στο φυτό και έμμεσα το σχηματισμό περισσότερων κεφαλών σε φαρμακευτικά φυτά. Ακόμη, συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Andrzejewska et al. 2011 και Belitz και Sams (2007), όπου ο αριθμός ταξιανθιών ανά φυτό μειώθηκε με την αύξηση της πυκνότητας σποράς.

Το βάρος των 1000 σπόρων δεν επηρεάστηκε σημαντικά από την πυκνότητα σποράς, όμοια με τις μετρήσεις του βάρους 1000 σπόρων σιταριού σε διαφορετικές πυκνότητες σε πείραμα των Lazzaro et al. 2017. Ωστόσο, δύναται να σημειωθεί ελάχιστη μείωση του βάρους 1000 σπόρων σιταριού (κατά 5,5%) σε πυκνή σπορά, όταν τα φυτά προέρχονται από παραδοσιακές τοπικές και μη γενετικά βελτιωμένες ποικιλίες σιταριού (Lazzaro et al. 2017).

Σημειώθηκε θετική συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης σε σπόρο και της χαμηλής πυκνότητας σποράς. Συγκεκριμένα, καταγράφηκε αύξηση της απόδοσης ως και 18,7% στην αραιή σπορά (28 φυτά m^{-2}) σε σχέση με την πυκνή σπορά (40 φυτά m^{-2}) ($P<0,01$). Τα συγκεκριμένα ευρήματα συνάδουν με τα αντίστοιχα των Andrzejewska et al. 2011 και Belitz και Sams (2007), με αναφορά σε μείωση της απόδοσης και του ολικού αριθμού των σπόρων με την αύξηση της πυκνότητας. Υπάρχουν έντονα στοιχεία που αποδεικνύουν ότι η αραιή σπορά οδηγεί σε υψηλότερες αποδόσεις. Τα προκείμενα αποτελέσματα μπορούν να αποδοθούν στο γεγονός ότι, σε αραιή σπορά, σχηματίστηκε μεγαλύτερος αριθμός κεφαλών ανά φυτό. Στο σιτάρι, αυτό αποδίδεται στον αυξημένο βαθμό αδερφώματος λόγω αραιής κατανομής των φυτών αλλά και στην αυξημένη πιθανότητα αυτών να παράγουν γόνιμα σταχύδια (Lazzaro et al. 2017). Μάλιστα η υψηλή απόσταση μεταξύ γραμμών σποράς (αραιή σπορά) σε σιτάρι δύναται να αυξήσει την απόδοση ως και 16% (σε συνδυασμό με μηχανική ζιζανιοκτονία) (Kolb et al. 2012). Σε πειράματα με τα φαρμακευτικά φυτά *Nigella sativa* και *Cuminum cyminum* καταγράφηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ υψηλής πυκνότητας σποράς και απόδοσης σε σπόρο (Ghorbanpour 2017). Ωστόσο σε ορισμένα πειράματα δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στην απόδοση σε σπόρο σε διαφορετικές πυκνότητες σποράς, με το καλαμπόκι (σε πυκνότητες σποράς 3,71 φυτά m^{-2} και 7,41% φυτά m^{-2} και με συγκαλλιέργεια) να αποδίδει την ίδια ποσότητα σπόρου και στις δυο περιπτώσεις (Youngermann et al. 2018). Βέβαια υπάρχουν και αναφορές για θετική συσχέτιση μεταξύ της απόδοσης και της υψηλής πυκνότητας σποράς, όπως στο πείραμα των Chauhan et al. 2017 όπου οι αποδόσεις του φασολιού ήταν υψηλότερες

σε πυκνή σπορά (με 25 cm απόσταση μεταξύ των γραμμών σποράς) έναντι της αραιής σποράς (με 75 cm απόσταση μεταξύ των γραμμών σποράς).

Η πυκνότητα σποράς δεν επηρέασε σημαντικά την επί τοις εκατό περιεκτικότητα των σπόρων σε σιλυμαρίνη. Τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με τα αντίστοιχα των Belitz και Sams (2007), οι οποίοι κατέγραψαν μηδενική συσχέτιση μεταξύ πυκνότητας σποράς και ποσοστιαίας περιεκτικότητας σε σιλυμαρίνη καθώς επίσης και ουδεμία επίδραση στην περιεκτικότητα των συστατικών αυτής (σιλυμπίνης, σιλυκριστίνης κλπ.). Ομοίως, δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της πυκνότητας σποράς στην επί τοις εκατό περιεκτικότητα του ελαίου στο σπόρο καθώς επίσης και στην απόδοση σε έλαιο. Έχει σημειωθεί μείωση στις αποδόσεις αιθέριου ελαίου στα φυτά *Origanum vulgares* και *Thymus vulgaris* λόγω υψηλής πυκνότητας· ωστόσο δεν πρόκειται για έγκυρη σύγκριση, καθότι τα έλαια των παραπάνω αρωματικών φυτών βρίσκονται εντός του φυτικού σώματος, ενώ στο γαϊδουράγκαθο το αξιοποιήσιμο έλαιο βρίσκεται στο σπόρο (Ghorbanpour 2017). Σχετικά αλλά μη συγκρίσιμα αποτελέσματα δημοσίευσαν και οι Kolb et al. 2012, οι οποίοι αναφέρουν πως η υψηλή πυκνότητα σποράς σε καλλιέργεια σιταριού (600 φυτά m⁻²), οδήγησε σε μείωση της πρωτεΐνης του σπόρου ως και 5% σε σχέση με τις συνήθεις πυκνότητες σποράς.

Η απόδοση σε σιλυμαρίνη επηρεάστηκε από τον παράγοντα της πυκνότητας, με την αραιή σπορά να οδηγεί σε υψηλότερη απόδοση σε σιλυμαρίνη, έναντι της πυκνής σποράς ($P < 0,05$). Τα αποτελέσματα αυτά μπορούν να αποδοθούν στον συνδυασμό της αυξημένης απόδοσης σε σπόρο, όπως συνιστούν οι Omidbaigi et al. 2003.

Η πυκνότητα σποράς, ενώ δεν επηρέασε τον αριθμό ζιζανίων ανά τεμάχιο επηρέασε σημαντικά το νωπό και ξηρό βάρος τους (με $P < 0,01$ και $P < 0,001$ αντίστοιχα). Ειδικότερα, η αραιή σπορά οδήγησε σε αύξηση του νωπού και ξηρού βάρους των ζιζανίων κατά 34,4% και 32,7% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με τα αντίστοιχα των Lazzaro et al. 2017, Kristensen et al. 2008, Kolb et al. 2012 και των Weiner et al. 2001, με τις δυο τελευταίες έρευνες να καταγράφουν μείωση στην ολική βιομάζα των ζιζανίων (30% και 60% αντίστοιχα) σε συνθήκες υψηλής σποράς έναντι της αραιής σποράς σιταριού. Μάλιστα οι τελευταίοι, αναφέρουν πως η υψηλή πυκνότητα σποράς προκαλεί σημαντική ζημία στην ανάπτυξη των ζιζανίων όταν η ίδια η καλλιέργεια πλεονεκτεί σε ανάπτυξη έναντι αυτών, ενώ όταν τα ζιζάνια εμφανίζονται νωρίτερα από την καλλιέργεια και έχουν ήδη σημαντική ανάπτυξη από την αρχή της καλλιεργητικής περιόδου, η πυκνότητα σποράς δεν αποτελεί πετυχημένη μέθοδο αναστολής τους.

4.2 Επίδραση της ζιζανιοχλωρίδας στην απόδοση της καλλιέργειας γαϊδουράγκαθου

Η ύπαρξη ζιζανίων κατά την καλλιεργητική περίοδο άσκησε αρνητική ή καμία επιρροή στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των φυτών. Συγκεκριμένα, μείωσε την διάμετρο ροζέτας στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας σε σχέση με τα τεμάχια μάρτυρες (χωρίς ζιζάνια) ($P<0,01$), οδήγησε σε μείωση του τελικού ύψους των φυτών σε σχέση με τα τεμάχια μάρτυρες ($P<0,05$), ενώ δεν είχε επίδραση στη σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων αυτών μπορούν να αποδίδονται στον ανταγωνισμό των ζιζανίων από τα αρχικά στάδια της καλλιέργειας, αφού τα νεαρά γαϊδουράγκαθα είναι περισσότερο ευάλωτα σε αυτόν.

Το ξηρό βάρος του υπέργειου τμήματος επηρεάστηκε σημαντικά από την παρουσία των ζιζανίων, με τα αντίστοιχα τεμάχια να παρουσιάζουν μείωση στη ξηρή βιομάζα ως και 17% σε σχέση με τα τεμάχια μάρτυρες ($P<0,001$). Με παρόμοια ευρήματα, ο Ghorbanpour (2017) πραγματοποιεί εκτενή αναφορά στην αρνητική επίδραση των ζιζανίων στη βιομάζα των περισσότερων φαρμακευτικών φυτών, τονίζοντας μάλιστα ότι επηρεάζουν και τον σχηματισμό ταξιανθιών αλλά και τον ολικό αριθμό των βιώσιμων σπόρων της καλλιέργειας. Ωστόσο η παρούσα μελέτη, δεν κατέγραψε καμία επίδραση της ζιζανιοχλωρίδας στον αριθμό των ταξιανθιών ανά φυτό και στο βάρος 1000 σπόρων, παρά μόνο μια μικρή αρνητική επίδραση στην απόδοση σε σπόρο. Δηλαδή, τα τεμάχια με ζιζάνια εμφάνισαν ως και 14,5% μείωση της απόδοσης σε σπόρο σε σχέση με τα τεμάχια μάρτυρες ($P<0,05$). Τα αποτελέσματα αυτά συνάδουν με τα αντίστοιχα των Zheljaskov et al. 2006, οι οποίοι παρατήρησαν σημαντική απώλεια (σε κιλά σπόρου ανά εκτάριο) της τάξης του 42% σε καλλιέργεια γαϊδουράγκαθου εξαιτίας της παρουσίας των ζιζανίων.

Τέλος, η επί τοις εκατό περιεκτικότητα της σίλυμαρίνης και του ελαίου, καθώς επίσης και η απόδοση σε σίλυμαρίνη και έλαιο, φαίνεται πως δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την ζιζανιοχλωρίδα. Οι Zheljaskov et al. 2006, κατέγραψαν αύξηση στην περιεκτικότητα της σίλυμαρίνης με τη χρήση χημικής ζιζανιοκτονίας και μείωση στην περιεκτικότητα του ελαίου. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μέτρησης μπορούν να δικαιολογήσουν τον intra-specific ανταγωνισμό (ανταγωνισμός μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους) και όχι τον inter-specific ανταγωνισμό (ανταγωνισμός μεταξύ ατόμων διαφορετικών ειδών ή ανταγωνισμός μεταξύ της καλλιέργειας και των ζιζανίων), καθότι ο inter-specific δεν επηρέασε την σίλυμαρίνη ή το έλαιο στο σπόρο της καλλιέργειας, αλλά η υψηλή πυκνότητα σποράς σε τεμάχια μάρτυρες (που έγκειται στον intra-specific ανταγωνισμό), επηρέασε την απόδοση σε σίλυμαρίνη. Αυτό αποδεικνύει εν μέρει την ανταγωνιστική φύση του γαϊδουράγκαθου για εδραίωση και

κυριαρχία επί των υπολοίπων ειδών, ως γηγενές ζιζάνιο προσαρμοσμένο σε αντίξοες συνθήκες και ικανό να εκμεταλλευτεί στο έπακρο του διαθέσιμους πόρους προς όφελος του. Τα διαφορετικά φυτικά είδη που αναπτύσσονται παράλληλα με τα γαϊδουράγκαθα δεν δύνανται να επηρεάσουν σε πολύ μεγάλο βαθμό τα αξιοποιήσιμα προϊόντα του (σίλυμαρίνη και έλαιο), αλλά τα ίδια τα γαϊδουράγκαθα δύνανται να επηρεάσουν (μέσω της υψηλής πυκνότητας τους), την απόδοση σε σίλυμαρίνη ή και την έκβαση ολόκληρης της καλλιέργειας.

4.3 Συμπεράσματα

Η παρούσα μελέτη παρουσιάζει σημαντικά ευρήματα που αφορούν την επίδραση της πυκνότητας σποράς και την παρουσία των ζιζανίων στις αποδόσεις της καλλιέργειας γαϊδουράγκαθων. Μετά την ανάλυση και τη συζήτηση των πειραματικών αποτελεσμάτων και σύμφωνα με τους πίνακες, προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα:

- Η αραιή πυκνότητα σποράς και η μηχανική ζιζανιοκτονία ευνοούν τη βέλτιστη ανάπτυξη των μορφολογικών χαρακτηριστικών των γαϊδουράγκαθων (διάμετρος ροζέτας, ύψος φυτού, σχετική συγκέντρωση χλωροφύλλης και αριθμός ταξιανθιών ανά φυτό).
- Η καταπολέμηση ζιζανίων και η πυκνή σπορά αποδίδουν τη βέλτιστη ξηρή βιομάζα.
- Η στρεμματική απόδοση σε σπόρο ευνοείται σημαντικά από την αραιή σπορά.
- Η περιεκτικότητα του σπόρου σε σίλυμαρίνη δεν επηρεάζεται από τους δυο παράγοντες (πυκνότητα και ζιζανιοχλωρίδα), αλλά η στρεμματική απόδοση σε σίλυμαρίνη παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την αραιή σπορά.
- Η περιεκτικότητα του σπόρου σε έλαιο και η απόδοσή του, δεν επηρεάζεται από τους δυο παράγοντες (πυκνότητα και ζιζανιοχλωρίδα).

Λίγες είναι οι διαθέσιμες έρευνες που αφορούν στις καλλιεργητικές πρακτικές του γαϊδουράγκαθου και ακόμη λιγότερες αυτές που αφορούν σε ελληνικούς πληθυσμούς. Κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη για την αποδοτικότερη καλλιέργεια του φυτού, το οποίο εμφανίζει σημαντικό ενδιαφέρον και μεγάλες προοπτικές ως καλλιεργούμενο φαρμακευτικό φυτό στην Ελλάδα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

- Abenavoli L., Izzo A.A., Milić N., Cicala C., Santini A., Capasso R., 2018. Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and neutraceutical uses in liver diseases. *Phytother Res* 32:2202-2213
- AbouZid S.F., Chen S., Pauli G.F., 2016. Silymarin content in *Silybum marianum* populations growing in Egypt. *Ind Crops Prod* 83:729-737
- Alemardan A., Karkanis A., Salehi R., 2013. Breeding objectives and selection criteria for milk thistle [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] improvement. *Not Bot Horti Agrobot* 41(2):340-347
- Andrzejewska J., Sadowska K., Mielcarek S., 2011. Effect of sowing date and rate on the yield and flavonolignan content of the fruits of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) grown on light soil in a moderate climate. *Ind Crops Prod* 33:462-468
- Andrzejewska J., Martinelli T., Sadowska K., 2015. *Silybum marianum*: non-medical exploitation of the species. *Ann Appl Biol* 167:285-297
- Andrzejewska J., Ignaczak S., Martinelli T., 2017. Effects of seed material preparation on plant emergence and yield of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) in a moderate climate. *Acta Sci Pol-Hortoru* 16(2):139-148
- Angonin C., Caussanel J.P., Meynard J.M., 1996. Competition between winter wheat and *Veronica hederifolia*: influence of weed density and the amount and timing of nitrogen application. *Weed Res* 36:175-187
- Belitz A.R., Sams C.E., 2007. The effect of population density on growth, yield and flavonolignan content in milk thistle (*Silybum marianum*). *Acta Horti* 756:251-258
- Biedermann D., Vavříková E., Cvak L., Křen V., 2014. Chemistry of silybin. *Nat Prod Rep* 31(9):1138-1157
- Carrier D.J., Crome T., Sokhansanj S., Wahab J., Barl B., 2003. Milk thistle, *Silybum marianum* (L.) Gaertn., flower head development and associated marker compound profile. *J Herbs Spices Med Plants* 10(1):65-74

- Chambers C.S., Holečková V., Petrásková L., Biedermann D., Valentová K., Buchta M., Křen V., 2017. The silymarin composition... and why does it matter ??? *Food Res Int* 100:339-353
- Champion G.T., Froud-Williams R.J., Holland J.M., 1998. Interactions between wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar, row spacing and density and the effect on weed suppression and crop yield. *Ann Appl Biol* 133:443-453
- Chauhan B.S., Florentine S.K., Ferguson J.C., Chechetto R.G., 2017. Applications of narrow crop row spacing in managing weeds in mungbean (*Vigna radiata*). *Crop Prot* 95:116-119
- Corchete P., 2008. *Silybum marianum* (L.) Gaertn.: the source of silymarin. In: Ramawat KG, Merillon JM (ed.), *Bioactive Molecules and Medicinal Plants*. Springer, pp. 123-148
- Dhima K., Eleftherohorinos I., 2005. Wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) competition with three winter cereals as affected by nitrogen supply. *J Agron Crop Sci* 191:241-248
- Dhima K., Vasilakoglou I., Lithourgidis A., Micolari E., Keco R., Agolli Xh., Eleftherohorinos I., 2008. Phytotoxicity of 10 winter barley varieties and their competitive ability against common poppy and ivy-leaved speedwell. *Expl Agric* 44:385-397
- Dodd J., 1989. Phenology and seed production variegated thistle *Silybum marianum* (L.) Gaertn, in Australia in relation to mechanical and biological control. *Weed Res* 29:255-263
- Efthimiadou A.P., Karkanis A.C., Bilalis D.J., Efthimiadis P., 2009. Review: The phenomenon of crop-weed competition; a problem or a key for sustainable weed management? *J Food Agric Environ* 7(2):861-862
- Fathi-Achachlouei B., Azadmard-Damirchi S., 2009. Milk thistle seed oil constituents from different varieties grown in Iran. *J Am Oil Chem Soc* 86:643-649
- Gabay R., Plitmann U., Danin A., 1994. Factors affecting the dominance of *Silybum marianum* L. (Asteraceae) in its specific habitats. *Flora* 189:201-206

- Gabucci L., Curioni A., Garcia M., Urrutia M.E., 2002. Seeds production in milk thistle crop [Producción de semillas en el cultivo de cardo mariano]. *Acta Horti* 569:121-128
- Ghavami N, Ramin A.A., 2008. Grain yield and Active substances of milk thistle as affected by soil salinity. *Commun Soil Sci Plant Anal* 39(17-18):2608-2618
- Ghorbanpour M., Varma A. (eds), 2017. Medicinal Plants and Environmental Challenges. In: Carrubba A., Weed and Weeding Effects on Medicinal Herbs, Springer International Publishing, Switzerland, pp. 295-327
- Gresta F., Avola G., Guarnaccia P., 2006. Agronomic characterization of some spontaneous genotypes of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.) in Mediterranean environment. *J Herbs Spices Med Plants* 12(4):51-60
- Karkanis A., Bilalis D., Efthimiadou A., 2011. Cultivation of milk thistle (*Silybum marianum* L. Gaertn.), a medicinal weed. *Ind Crops Products* 34:825-830
- Karkanis A., Ntatsi G., Kontopoulou C.-K., Pristeri A., Bilalis D., Savvas D., 2016. Field pea in European cropping systems: Adaptability, biological nitrogen fixation and cultivation practices. *Not Bot Horti Agrob* 44(2):325-336
- Keshavarz R.A., Chaichi M.R., Ansari M.J., Jahanzad E., Hashemi M., 2015. Accumulation of silymarin in milk thistle seeds under drought stress. *Planta* 242:539-543
- Khan M.A., Blackshaw R.E., Marwat K.B., 2009. Biology of milk thistle (*Silybum marianum*) and the management options for growers in north-western Pakistan. *Weed Biol Manag* 9:99-105
- Kolářková P., Růžicková G., Šafránková I., Hron K., Hružová K., 2015. Evaluation of the growth dynamics and morphological characteristics of genetic sources of *Silybum marianum*(L.) Gaertn. *Acta Univ Agric Silvic Mendel Brun* 63(4):1141-1146
- Kolb L., Gallandt E., Mallory E., 2012. Impact of spring wheat planting density, row spacing, and mechanical weed control on yield, grain protein, and economic return in maize. *Crop Sci* 60(2):244-253
- Křen V., Walterová D., 2005. Silybin and silymarin - new effects and applications. *Biomed Pap* 149(1):29-41

- Kristensen L., Olsen J., Weiner J., 2008. Crop density, sowing pattern, and nitrogen fertilization effects on weed suppression and yield in spring wheat. *Weed Sci* 56(1):97-102
- Lazzaro M., Costanzo A., Farag D.H., Bàrberi P., 2017. Grain yield and competitive ability against weeds in modern and heritage common wheat cultivars are different influenced by sowing density. *Ital J Agron* 12(901):343-349
- Lucini L., Kane D., Pellizzoni M., Ferrari A., Trevisi E., Ruzickova G., Arslan D., 2016. Phenolic profile and *in vitro* antioxidant power of different milk thistle [*Silybum marianum* L. Gaertn.] cultivars. *Ind Crops Products* 83:11-16
- Martin R.J., Lauren D.R., Smith W.A., Jensen D.J., Deo B., Douglas J.A., 2006. Factors influencing silymarin content and composition in variegated thistle (*Silybum marianum*). *New Zeal J Crop Hort* 34(3):239-245
- Martinelli T., Andrzejewska J., Salis M., Sulas L., 2015. Phenological growth stages of *Silybum marianum* according to the extended BBCH scale. *Ann Appl Biol* 166:53-66
- Martinelli T., Potenza E., Moschella A., Zaccheria F., Benedettelli S., Andrzejewska J., 2016. Phenotypic evaluation of a milk thistle germplasm collection: Fruit morphology and chemical composition. *Crop Sci.* 56:1-13
- Martinelli T., Whittaker A., Benedettelli S., Carboni A., Andrzejewska J., 2017. The study of flavonolignan association patterns in fruits of diverging *Silybum marianum* (L.) Gaertn. Chemotypes provides new insights into the silymarin biosynthetic pathway. *Phytochemistry* 144:9-18
- Mhamdi B., Abbassi F., Smaoui A., Abdelly C., Marzouk B., 2016. Fatty acids, essential oils and phenolic composition of *Silybum marianum* seeds and other antioxidant activities. *Pak J Pharm Sci* 29(3):953-959
- Nikolaychenko N.V., Eskov I.D., Muravyova M.V., Strizhkov N.I., Azizov Z.M., 2017. Productivity and plant protection from diseases and pests of milk thistle (variety Amulet) in chernozems in the steppe zone of the Volga region. *J Pharm Sci & Res* 9(7):1164-1168

- Olsen J., Kristensen L., Weiner J., Griepentrog H.W., 2005. Increased density and spatial uniformity increase weed suppression by spring wheat. *Weed Res* 45:316-321
- Omer E.A., Refaat A.M., Ahmed S.S., Kamel A., Hammouda F.M., 1993. Effect of spacing and fertilization on the yield and active constituents of milk thistle, *Silybum marianum*. *J Herbs Spices Med Plants* 1(4):17-23
- Omidbaigi R., Karimzadeh G., Koshki M.H., 2003. A study on the influence of sowing date and plant density on the productivity of *Silybum marianum* and the characteristics correlation. *Iran J Sci Technol B* 27(1):203-212
- Poppe L., Petersen M., 2016. Variation in the flavonolignan composition of fruits from different *Silybum marianum* chemotypes and suspension cultures derived therefrom. *Phytochemistry* 131:68-75
- Post-White J., Ladas E.J., Kelly K.M., 2007. Advances in the use of milk thistle. *Integr Cancer Ther* 6(2):104-109
- Shokrpour M., Mohammadi S.A., Moghaddam M., Ziai S.A., Javanshir A., 2008. Variation in flavonolignan concentration of milk thistle (*Silybum marianum*) fruits grown in Iran. *J Herbs Spices Med Plants* 13(4):55-69
- Sindel B.M., 1991. A review of the ecology and control of thistles in Australia. *Weed Res* 31:189-201
- Smith T., Lynch M.E., Johnson J., Kawa K., Bauman H., Blumenthal M., 2015. Herbal dietary supplements sales in US increase 6,8% in 2014. *Herbal Gram* 107:52-59
- Takase M., Feng W., Wang W., Gu X., Zhu Y., Li T., Yang L., Wu X., 2014. *Silybum marianum* oil as a new potential non-edible feedstock for biodiesel: A comparison of its production using conventional and ultrasonic assisted method. *Fuel Process Technol* 123:19-26
- Torner C., Gonzalez Andujar J.L., Fernandez-Quintanilla C., 1991. Wild oat (*Avena sterilis* L.) competition with winter barley: plant density effects. *Weed Res* 31:301-307
- Vaknin Y., Hadas R., Schafferman D., Murkhovsky L., Bashan N., 2008. The potential of milk thistle (*Silybum marianum* L.), an Israeli native, as a source of edible sprouts rich in antioxidants. *Int J Food Sci Nutr* 59(4):339-346

- Wang L., Rotter R., Ladurner A., Heiss E.H., Oberlies N.H., Dirsch V.M., Atanasov A.G., 2016. Silymarin constituents Enhance ABCA1 expression in THP-1 macrophages. *Molecules* 21(1):55-63
- Weiner J., Griepentrog H.W., Kristensen L., 2001. Suppression of weeds by spring wheat *Triticum aestivum* increases with crop density and spatial uniformity. *J Appl Ecol* 38:784-790
- Youngermann C.Z., DiTommaso A., Curran W.S., Mirsky S.B., Ryan M.R., 2018. Corn density effect on interseeded cover crops, weeds, and grain yield. *Agron J* 110(6):2478-2487
- Zhelev I., Merdzhanov P., Angelova-Romova M., Zlatanov M., Antova G., Dimitrova-Dyulgerova I., Stoyanova A., 2014. Lipid composition of *Carduus thoermeri* Weinm., *Onopordum acanthium* L., and *Silybum marianum* L. growing in Bulgaria. *Bulg J Agric Sci* 20(3):622-627
- Zheljazkov V., Zhelnor I., Nedkov N., 2006. Herbicides for weed control in blessed thistle (*Silybum marianum*). *Weed Technol* 20(4):1030-1034

Ελληνική Βιβλιογραφία

- Ελευθεροχωρινός Η.Γ., 2014. Ζιζανιολογία: Ζιζάνια, Ζιζανιοκτονία, Περιβάλλον, Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης (4^η έκδοση). Αθήνα, Εκδόσεις ΑγρόΤυπος, 432 σελ.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

1. Ανάλυση της διασποράς για τη διάμετρο της ροζέτας-1^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	0,535	0,535	0,120	0,738
Weed	1	0,717	0,717	0,161	0,699
plant density x Weed	1	0,00593	0,00593	0,00133	0,972
Residual	8	35,712	4,464		
Total	11	36,970	3,361		

2. Ανάλυση της διασποράς για τη διάμετρο της ροζέτας-2^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	131,561	131,561	42,001	<0,001
Weed	1	54,329	54,329	17,345	0,003
plant density x Weed	1	2,370	2,370	0,757	0,410
Residual	8	25,059	3,132		
Total	11	213,320	19,393		

3. Ανάλυση της διασποράς για το ύψος του φυτού-1^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	433,601	433,601	26,498	<0,001
Weed	1	1,713	1,713	0,105	0,755
plant density x Weed	1	7,468	7,468	0,456	0,518
Residual	8	130,910	16,364		
Total	11	573,692	52,154		

4. Ανάλυση της διασποράς για το ύψος του φυτού-2^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	1295,148	1295,148	74,181	<0,001
Weed	1	229,979	229,979	13,172	0,007
plant density x Weed	1	10,704	10,704	0,613	0,456
Residual	8	139,674	17,459		
Total	11	1675,505	152,319		

5. Ανάλυση της διασποράς για το ύψος του φυτού-3^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	3081,608	3081,608	38,666	<0,001
Weed	1	497,941	497,941	6,248	0,037
plant density x Weed	1	14,301	14,301	0,179	0,683
Residual	8	637,589	79,699		
Total	11	4231,438	384,676		

6. Ανάλυση της διασποράς για την σχετική συγκέντρωση γλωροφύλλης (τιμές SPAD)-1^η**Μέτρηση**

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	4,360	4,360	1,511	0,254
Weed	1	2,901	2,901	1,005	0,345
plant density x Weed	1	28,933	28,933	10,026	0,013
Residual	8	23,086	2,886		
Total	11	59,280	5,389		

7. Ανάλυση της διασποράς για την σχετική συγκέντρωση γλωροφύλλης (τιμές SPAD)-2^η**Μέτρηση**

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	4,320	4,320	7,072	0,029
Weed	1	5,603	5,603	9,173	0,016
plant density x Weed	1	1,920	1,920	3,143	0,114
Residual	8	4,887	0,611		
Total	11	16,730	1,521		

8. Ανάλυση της διασποράς για την σχετική συγκέντρωση γλωροφύλλης (τιμές SPAD)-3^η**Μέτρηση**

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	29,141	29,141	30,434	<0,001
Weed	1	2,341	2,341	2,445	0,157
plant density x Weed	1	0,801	0,801	0,836	0,387
Residual	8	7,660	0,957		
Total	11	39,942	3,631		

9. Ανάλυση της διασποράς για το ξηρό βάρος- 1^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	16322,501	16322,501	14,868	0,005
Weed	1	411,279	411,279	0,375	0,557
plant density x Weed	1	11,036	11,036	0,0101	0,923
Residual	8	8782,773	1097,847		
Total	11	25527,590	2320,690		

10. Ανάλυση της διασποράς για το ξηρό βάρος- 2^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	89323,959	89323,959	17,262	0,003
Weed	1	36905,303	36905,303	7,132	0,028
plant density x Weed	1	137,905	137,905	0,0267	0,874
Residual	8	41396,066	5174,508		
Total	11	167763,232	15251,203		

11. Ανάλυση της διασποράς για το ξηρό βάρος- 3^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	106370,670	106370,670	11,198	0,010
Weed	1	141970,955	141970,955	14,946	0,005
plant density x Weed	1	867,680	867,680	0,0913	0,770
Residual	8	75989,653	9498,707		
Total	11	325198,958	29563,542		

12. Ανάλυση της διασποράς για το ξηρό βάρος- 4^η Μέτρηση

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	130458,453	130458,453	20,362	0,002
Weed	1	272598,221	272598,221	42,546	<0,001
plant density x Weed	1	2483,714	2483,714	0,388	0,551
Residual	8	51256,566	6407,071		
Total	11	456796,955	41526,996		

13. Ανάλυση της διασποράς για τον αριθμό κεφαλών (ταξιανθίες)

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	4,813	4,813	13,412	0,006
Weed	1	0,333	0,333	0,929	0,363
plant density x Weed	1	0,0133	0,0133	0,0372	0,852
Residual	8	2,871	0,359		
Total	11	8,031	0,730		

14. Ανάλυση της διασποράς για το βάρος 1000 σπόρων

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	3,882	3,882	4,930	0,057
Weed	1	1,317	1,317	1,672	0,232
plant density x Weed	1	0,00973	0,00973	0,0124	0,914
Residual	8	6,299	0,787		
Total	11	11,507	1,046		

15. Ανάλυση της διασποράς για την απόδοση σε σπόρο

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	2366,485	2366,485	16,205	0,004
Weed	1	1208,333	1208,333	8,274	0,021
plant density x Weed	1	163,340	163,340	1,119	0,321
Residual	8	1168,272	146,034		
Total	11	4906,431	446,039		

16. Ανάλυση της διασποράς για την επί τοις εκατό περιεκτικότητα της σιλυμαρίνης

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	0,599	0,599	4,348	0,071
Weed	1	0,0697	0,0697	0,506	0,497
plant density x Weed	1	0,0121	0,0121	0,0875	0,775
Residual	8	1,102	0,138		
Total	11	1,782	0,162		

17. Ανάλυση της διασποράς για την επί τοις εκατό περιεκτικότητα του ελαίου

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	2,571	2,571	2,374	0,162
Weed	1	1,013	1,013	0,935	0,362
plant density x Weed	1	0,181	0,181	0,167	0,693
Residual	8	8,662	1,083		
Total	11	12,426	1,130		

18. Ανάλυση της διασποράς για την απόδοση σε σιλυμαρίνη

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	5,873	5,873	7,078	0,029
Weed	1	1,733	1,733	2,089	0,186
plant density x Weed	1	0,351	0,351	0,424	0,533
Residual	8	6,638	0,830		
Total	11	14,595	1,327		

19. Ανάλυση της διασποράς για την απόδοση σε έλαιο

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	92,472	92,472	3,046	0,119
Weed	1	97,106	97,106	3,199	0,111
plant density x Weed	1	5,994	5,994	0,197	0,669
Residual	8	242,859	30,357		
Total	11	438,431	39,857		

20. Ανάλυση της διασποράς για τον αριθμό των ζιζανίων

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	2,572	2,572	0,0147	0,906
Weed	1	10208,333	10208,333	58,368	<0,001
plant density x Weed	1	23,148	23,148	0,132	0,725
Residual	8	1399,177	174,897		
Total	11	11633,230	1057,566		

21. Ανάλυση της διασποράς για το νωπό βάρος των ζιζανίων

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	130283,807	130283,807	19,252	0,002
Weed	1	1595241,672	1595241,672	235,731	<0,001
plant density x Weed	1	7855,562	7855,562	1,161	0,313
Residual	8	54137,614	6767,202		
Total	11	1787518,655	162501,696		

22. Ανάλυση της διασποράς για το ξηρό βάρος των ζιζανίων

Source of Variation	DF	SS	MS	F	P
plant density	1	4830,047	4830,047	35,227	<0,001
Weed	1	41801,505	41801,505	304,871	<0,001
plant density x Weed	1	739,557	739,557	5,394	0,049
Residual	8	1096,895	137,112		
Total	11	48468,005	4406,182		